

1. Hình thái, cấu tạo và các đặc tính cơ bản của vi sinh vật
2. Sinh lý đại cương vi sinh vật
3. Sự phân bố của vi sinh vật trong môi trường tự nhiên

Hình thái, cấu tạo và các đặc tính cơ bản của vi sinh vật
Phần này trình bày về đặc điểm chung của vi sinh vật

ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA VI SINH VẬT

Vi sinh vật là một thế giới sinh vật vô cùng nhỏ bé mà ta không thể quan sát thấy bằng mắt thường. Nó phân bố ở khắp mọi nơi, trong đất, trong nước, trong không khí, trong thực phẩm ... Nó có mặt ở dưới những độ sâu tăm tối của đại dương. Bào tử của nó tung bay trên những tầng cao của bầu khí quyển, chu du theo những đám mây. Nó sống được trên kính, trên da, trên giấy, trên những thiết bị bằng kim loại ...

Vi sinh vật đóng vai trò vô cùng quan trọng trong thiên nhiên cũng như trong cuộc sống của con người. Nó biến đá mẹ thành đất trồng, nó làm giàu chất hữu cơ trong đất, nó tham gia vào tất cả các vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên. Nó là các khâu quan trọng trong chuỗi thức ăn của các hệ sinh thái. Nó đóng vai trò quyết định trong quá trình tự làm sạch các môi trường tự nhiên.

Từ xa xưa, con người đã biết sử dụng vi sinh vật trong đời sống hàng ngày. Các quá trình làm rượu, làm dấm, làm tương, muối chua thực phẩm ... đều ứng dụng đặc tính sinh học của các nhóm vi sinh vật. Khi khoa học phát triển, biết rõ vai trò của vi sinh vật, thì việc ứng dụng nó trong sản xuất và đời sống ngày càng rộng rãi và có hiệu quả lớn. Ví dụ như việc chế vacxin phòng bệnh, sản xuất chất kháng sinh và các dược phẩm quan trọng khác ... Đặc biệt trong bảo vệ môi trường, người ta đã sử dụng vi sinh vật làm sạch môi trường, xử lý các chất thải độc hại. Sử dụng vi sinh vật trong việc chế tạo phân bón sinh học, thuốc bảo vệ thực vật không gây độc hại cho môi trường, bảo vệ mối cân bằng sinh thái.

Trong thiên nhiên ngoài những nhóm vi sinh vật có ích như trên, còn có những nhóm vi sinh vật gây hại. Ví dụ như các nhóm vi sinh vật gây bệnh cho người, động vật và thực vật, các nhóm vi sinh vật gây ô nhiễm thực phẩm, ô nhiễm các nguồn nước, đất và không khí ... Nếu nắm vững cơ sở sinh học của tất cả các quá trình có lợi hay có hại trên, ta sẽ đưa ra được những biện pháp khoa học để phát huy những mặt có lợi và hạn

chế những mặt gây hại của vi sinh vật, đặc biệt là trong bảo vệ môi trường.

Vi sinh vật (microorganisms) là tên gọi chung để chỉ tất cả các sinh vật có hình thể bé nhỏ, muốn thấy rõ được người ta phải sử dụng tới kính hiển vi.

Virus (Virus) là nhóm vi sinh vật đặc biệt, chúng nhỏ bé tới mức chỉ có thể quan sát được qua kính hiển vi điện tử (electron microscope). Virus chưa có cả cấu trúc tế bào. Các vi sinh vật khác thường là đơn bào hoặc đa bào nhưng có cấu trúc đơn giản và chưa phân hoá thành các cơ quan sinh dưỡng (vegetative organs).

Vi sinh vật không phải là một nhóm riêng biệt trong sinh giới. Chúng thậm chí thuộc về nhiều giới (kingdom) sinh vật khác nhau. Giữa các nhóm có thể không có quan hệ mật thiết với nhau. Chúng có chung những đặc điểm sau đây:

Kích thước nhỏ bé

Mắt con người khó thấy được rõ những vật nhỏ hơn 1mm. Vậy mà vi sinh vật thường được đo bằng micromet (μ m, micrometre), virus thường được đo bằng nanomet (nm, nanometre).

$1 \mu\text{m} = 10^{-3} \text{ mm}$; $1 \text{ nm} = 10^{-6} \text{ mm}$, $1 \text{ \AA} (\text{angstrom}) = 10^{-7} \text{ mm}$. Vì vi sinh vật có kích thước nhỏ bé cho nên diện tích bề mặt của một tập đoàn vi sinh vật hết sức lớn. Chẳng hạn số lượng cầu khuẩn chiếm thể tích 1 cm^3 có diện tích bề mặt là 6 m^2 .

Hấp thu nhiều, chuyển hoá nhanh

Vi sinh vật tuy nhỏ bé chất trong sinh giới nhưng năng lực hấp thu và chuyển hoá của chúng có thể vượt xa các sinh vật bậc cao. Chẳng hạn vi khuẩn lactic (Lactobacillus) trong 1 giờ có thể phân giải một lượng đường lactozơ nặng hơn 1000 - 10000 lần khối lượng của chúng. Nếu tính số O_2 mà mỗi mg chất khô của cơ thể sinh vật tiêu hao trong 1 giờ

(biểu thị là - QO₂) thì ở mô lá hoặc mô rễ thực vật là 0,5 - 4, ở tổ chức gan và thận động vật là 10 - 20, còn ở nấm men rượu (*Sacharomyces cerevisiae*) là 110, ở vi khuẩn thuộc chi *Pseudomonas* là 1200, ở vi khuẩn thuộc chi *Azotobacter* là 2000. Năng lực chuyển hoá sinh hoá mạnh mẽ của vi sinh vật dẫn đến những tác dụng hết sức lớn lao của chúng trong thiên nhiên cũng như trong hoạt động sống của con người.

Sinh trưởng nhanh, phát triển mạnh

So với các sinh vật khác thì vi sinh vật có tốc độ sinh trưởng và sinh sôi nảy nở cực kỳ lớn. Vi khuẩn *Escherichia coli* trong các điều kiện thích hợp cứ khoảng 12 - 20 phút lại phân cắt một lần. Nếu lấy thời gian thế hệ (generation time) là 20 phút thì mỗi giờ phân cắt 3 lần, 24 giờ phân cắt 72 lần, từ một tế bào ban đầu sẽ sinh ra 4.722.366.500.000.000.000 tế bào (nặng 4711 tấn!). Tất nhiên trong thực tế không thể tạo ra các điều kiện sinh trưởng lý tưởng như vậy được cho nên số lượng vi khuẩn thu được trong 1ml dịch nuôi cấy thường chỉ đạt tới mức độ 10⁸ - 10⁹ tế bào. Thời gian thế hệ của nấm men *Saccharomyces cerevisiae* là 120 phút. Khi nuôi cấy để thu nhận sinh khối (biomass) giàu protein phục vụ chăn nuôi người ta nhận thấy tốc độ sinh tổng hợp (biosynthesis) của nấm men này cao hơn của bò tới 100.000 lần. Thời gian thế hệ của tảo *Chlorella* là 7 giờ, của vi khuẩn lam *Nostoc* là 23 giờ.

Năng lực thích ứng mạnh và dễ phát sinh biến dị

Năng lực thích ứng của vi sinh vật vượt rất xa so với động vật và thực vật. Trong quá trình tiến hoá lâu dài vi sinh vật đã tạo cho mình những cơ chế điều hoà trao đổi chất để thích ứng được với những điều kiện sống rất bất lợi. Người ta nhận thấy số lượng enzym thích ứng chiếm tới 10% lượng chứa protein trong tế bào vi sinh vật. Sự thích ứng của vi sinh vật nhiều khi vượt quá trí tưởng tượng của con người. Phần lớn vi sinh vật có thể giữ nguyên sức sống ở nhiệt độ của nitơ lỏng (-196°C), thậm chí ở nhiệt độ của hydro lỏng (- 253°C). Một số vi sinh vật có thể sinh trưởng ở nhiệt độ 250°C, thậm chí 300°C. Một số vi sinh vật có thể thích nghi với nồng độ 32% NaCl (muối ăn). Vi khuẩn *Thiobacillus*

thioxidans có thể sinh trưởng ở pH = 0,5 trong khi vi khuẩn *Thiobacillus denitrificans* có thể sinh trưởng ở pH = 10,7. Vi khuẩn *Micrococcus radiodurans* có thể chịu được cường độ bức xạ tới 750.000 rad. Ở nơi sâu nhất trong đại dương (11034 m) nơi có áp lực tới 1103,4 atm vẫn thấy có vi sinh vật sinh sống. Nhiều vi sinh vật thích nghi với điều kiện sống hoàn toàn thiếu oxi (vi sinh vật kỵ khí bắt buộc - obligate anaerobes). Một số nấm sợi có thể phát triển thành váng dày ngay trong bể ngâm xác có nồng độ phenol rất cao.

Vi sinh vật rất dễ phát sinh biến dị bởi vì thường là đơn bào, đơn bội, sinh sản nhanh, số lượng nhiều, tiếp xúc trực tiếp với môi trường sống. Tần số biến dị ở vi sinh vật thường là 10^{-5} - 10^{-10} . Hình thức biến dị thường gặp là đột biến gen (genemutation) và dẫn đến những thay đổi về hình thái, cấu tạo, kiểu trao đổi chất, sản phẩm trao đổi chất, tính kháng nguyên, tính đề kháng ... Chẳng hạn khi mới tìm thấy khả năng sinh chất kháng sinh của nấm sợi *Penicillium chrysogenum* người ta chỉ đạt tới sản lượng 20 đơn vị penixilin trong 1ml dịch lên men. Ngày nay trong các nhà máy sản xuất penixilin người ta đã đạt tới năng suất 100.000 đơn vị/ml. Bên cạnh các biến dị có lợi, vi sinh vật cũng thường sinh ra những biến dị có hại đối với nhân loại, chẳng hạn biến dị về tính kháng thuốc. Năm 1946 tỷ lệ các chủng *Staphylococcus aureus* kháng thuốc phân lập được ở bệnh viện là khoảng 14%, năm 1996 đã tăng lên đến trên 97%.

Người ta chỉ tiêm cho bệnh nhân mỗi ngày khoảng 100.000 đơn vị penixilin, ngày nay có lúc phải tiêm đến 10.000.000 - 200.000.000 đơn vị.

Phân bố rộng, chủng loại nhiều

Vi sinh vật phân bố ở khắp mọi nơi trên trái đất. Chúng có mặt trên cơ thể người, động vật, thực vật, trong đất, trong nước, trong không khí, trên mọi đồ dùng, vật liệu, từ biển khơi đến núi cao, từ nước ngọt, nước ngầm cho đến nước biển ...

Trong đường ruột của người thường có không dưới 100 - 400 loài sinh vật khác nhau, chúng chiếm tới 1/3 khối lượng khô của phân. Chiếm số lượng cao nhất trong đường ruột của người là vi khuẩn *Bacteroides*

fragilis, chúng đạt tới số lượng $10^{10} - 10^{11}$ /g phân (gấp 100 - 1000 lần số lượng vi khuẩn Escherichia coli).

Ở độ sâu 10.000 m của Đông Thái Bình Dương, nơi hoàn toàn tối tăm, lạnh lẽo và có áp suất rất cao người ta vẫn phát hiện thấy có khoảng 1 triệu - 10 tỉ vi khuẩn/ml (chủ yếu là vi khuẩn lưu huỳnh).

Vi nấm Vi tảo Động vật nguyên sinh Vi khuẩn

(Tế bào nhân sơ) (Tế bào nhân chuẩn)

Vi sinh vật nguyên thủy

Hình 1.1. Sơ đồ phát sinh các nhóm vi sinh vật

Vi sinh vật có vai trò to lớn đối với hệ sinh thái cũng như đối với đời sống con người

- Vi khuẩn và vi nấm là sinh vật phân giải các chất hữu cơ thành các chất vô cơ trong chu trình chuyển hoá vật chất của hệ sinh thái.

- Một số vi khuẩn, vi nấm cũng như một số động vật nguyên sinh là những tác nhân gây nhiều bệnh cho cây trồng, vật nuôi cũng như con người.

- Một số vi khuẩn và vi nấm phá huỷ lương thực thực phẩm, vật liệu xây dựng, kiến trúc, công nghiệp, mỹ thuật.

- Vi sinh vật mang lại lợi ích cho con người trong nhiều lĩnh vực công nghệ chế biến thực phẩm, dược phẩm, công nghệ sinh học và môi trường.

CÁC NHÓM VI SINH VẬT CHÍNH

Vi sinh vật vô cùng phong phú cả về thành phần và số lượng. Chúng bao gồm các nhóm khác nhau có đặc tính khác nhau về hình dạng, kích thước, cấu tạo và đặc biệt khác nhau về đặc tính sinh lý, sinh hoá.

Dựa vào đặc điểm cấu tạo tế bào, người ta chia ra làm 3 nhóm lớn:

- Nhóm chưa có cấu tạo tế bào bao gồm các loại virus.
- Nhóm có cấu tạo tế bào nhưng chưa có cấu trúc nhân rõ ràng (cấu trúc nhân nguyên thủy) gọi là nhóm Procaryotes, bao gồm vi khuẩn, xạ khuẩn và tảo lam.
- Nhóm có cấu tạo tế bào, có cấu trúc nhân phức tạp gọi là Eukaryotes bao gồm nấm men, nấm sợi (gọi chung là vi nấm) một số động vật nguyên sinh và tảo đơn bào.

Virus

Đặc điểm chung

Virus là nhóm vi sinh vật chưa có cấu tạo tế bào, có kích thước vô cùng nhỏ bé, có thể chui qua màng lọc vi khuẩn. Nhờ có sự phát triển nhanh chóng của kỹ thuật hiển vi điện tử, siêu ly tâm, nuôi cấy tế bào ... những thành tựu nghiên cứu về virus đã được đẩy mạnh, phát triển thành một ngành khoa học gọi là virus học.

Virus không có khả năng sống độc lập mà phải sống ký sinh trong các tế bào khác từ vi khuẩn cho đến tế bào động vật, thực vật và người, gây các loại bệnh hiểm nghèo cho các đối tượng mà chúng ký sinh. Ví dụ như bệnh AIDS.

Virus là nhóm vi sinh vật được phát hiện ra sau cùng trong các nhóm vi sinh vật chính vì kích thước nhỏ bé và cách sống ký sinh của chúng. Người phát hiện ra virus lần đầu tiên là nhà bác học người Nga - Ivanôpski. Ông là một chuyên gia nghiên cứu về bệnh khảm cây thuốc lá. Khi nghiên cứu về bệnh này ông đã phát hiện ra rằng: Dịch lọc của lá cây bị bệnh khi cho qua màng lọc vi khuẩn vẫn có khả năng gây bệnh. Từ đó ông rút ra kết luận: Nguyên nhân gây bệnh đốm thuốc lá phải là một loại sinh vật nhỏ hơn vi khuẩn. Phát hiện này được công bố năm 1892, 6 năm

sau, năm 1898, nhà khoa học người Hà Lan Beijerinck cũng nghiên cứu về bệnh khảm thuốc lá và có những kết quả tương tự, ông đặt tên mầm gây bệnh khảm thuốc lá là virus. Tiếp đó người ta phát hiện ra một số virus khác gây bệnh cho động vật và người. Đến năm 1915 đã phát hiện ra virus ký sinh trên vi khuẩn, gọi là thực khuẩn thể (Bacteriophage).

Hình thái và cấu trúc của virus

Hình thái và kích thước

Virus có kích thước rất nhỏ bé, có thể lọt qua màng lọc vi khuẩn, chỉ có thể quan sát chúng qua kính hiển vi điện tử. Kích thước từ 20 x 30 đến 150 x 300 nanomet ($1 \text{ nm} = 10^{-6} \text{ mm}$)

Nhờ kỹ thuật hiển vi điện tử, người ta phát hiện ra 3 loại hình thái chung nhất của virus. Đó là hình cầu, hình que và hình tinh trùng.

Hình que điển hình là virus đốm thuốc lá (virus VTL), chúng có hình que dài với cấu trúc đối xứng xoắn. Các đơn vị cấu trúc xếp theo hình xoắn quanh 1 trục, mỗi đơn vị gọi là capsome.

Loại hình cầu điển hình là một số virus động vật. Các đơn vị cấu trúc xếp theo kiểu đối xứng 4 mặt, 8 mặt hoặc 20 mặt.

Loại có hình dạng tinh trùng phổ biến hơn cả là các virus ký sinh trên vi khuẩn gọi là thực khuẩn thể hoặc Phage. Loại hình dạng này phần đầu có cấu trúc đối xứng khối phần đuôi là có cấu trúc đối xứng xoắn.

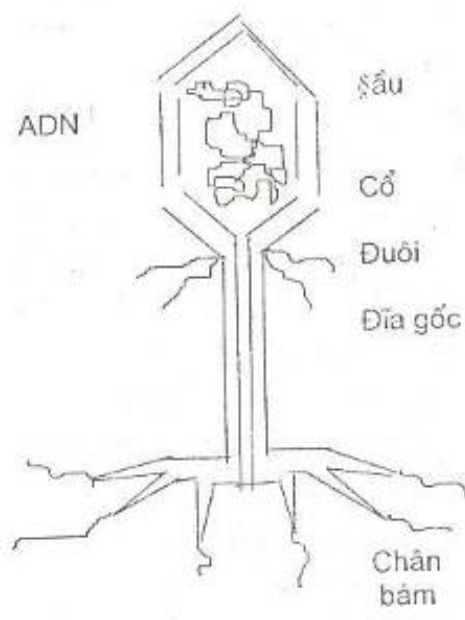
Cấu trúc điển hình của virus

Kiểu cấu trúc phức tạp nhất của virus là cấu trúc của thực khuẩn thể (Phage). Sau đây ta nghiên cứu cấu trúc của thực khuẩn thể T4 ký sinh trên vi khuẩn E. Coli.

Thực khuẩn thể T4 có 3 phần: đầu, cổ và đuôi. Đầu có dạng lăng kính 6 cạnh, đường kính 65 nm dài 95 nm, cấu tạo bởi protein tạo thành vỏ

capsit, vỏ capsit được cấu tạo bởi 212 đơn vị capsome. Bên trong phần đầu có chứa một phân tử AND 2 sợi có phân tử lượng 1,2.108.

Cổ là một đĩa 6 cạnh đường kính 37,5 nm có 6 sợi tua gọi là tua cổ. Đuôi là một ống rỗng được bao bọc bởi bao đuôi, bao đuôi có cấu tạo protein tạo thành vỏ Capxit, kích thước 8 x 95 nm. Phần rỗng trong đuôi gọi là trụ có đường kính 2,5 - 3,5 nm.



Hình 1.2. Cấu trúc đơn của thực khuẩn thể (Phage)

Phần cuối cùng của đuôi là một đĩa gốc hình 6 cạnh giống như đĩa cổ từ đó mọc ra 6 sợi gai gọi là chân bám.

Hình trên là cấu trúc điển hình của thực khuẩn thể T4.

Dựa trên cấu trúc cơ bản đó, thiên nhiên đã tạo ra hàng trăm hàng nghìn loại virus khác nhau. Ví dụ như phần lõi không phải là tất cả các virus đều chứa AND, có rất nhiều loại chứa ARN, chủ yếu là các virus thực vật. Chính từ loại này người ta đã phát hiện ra quá trình sao chép ngược

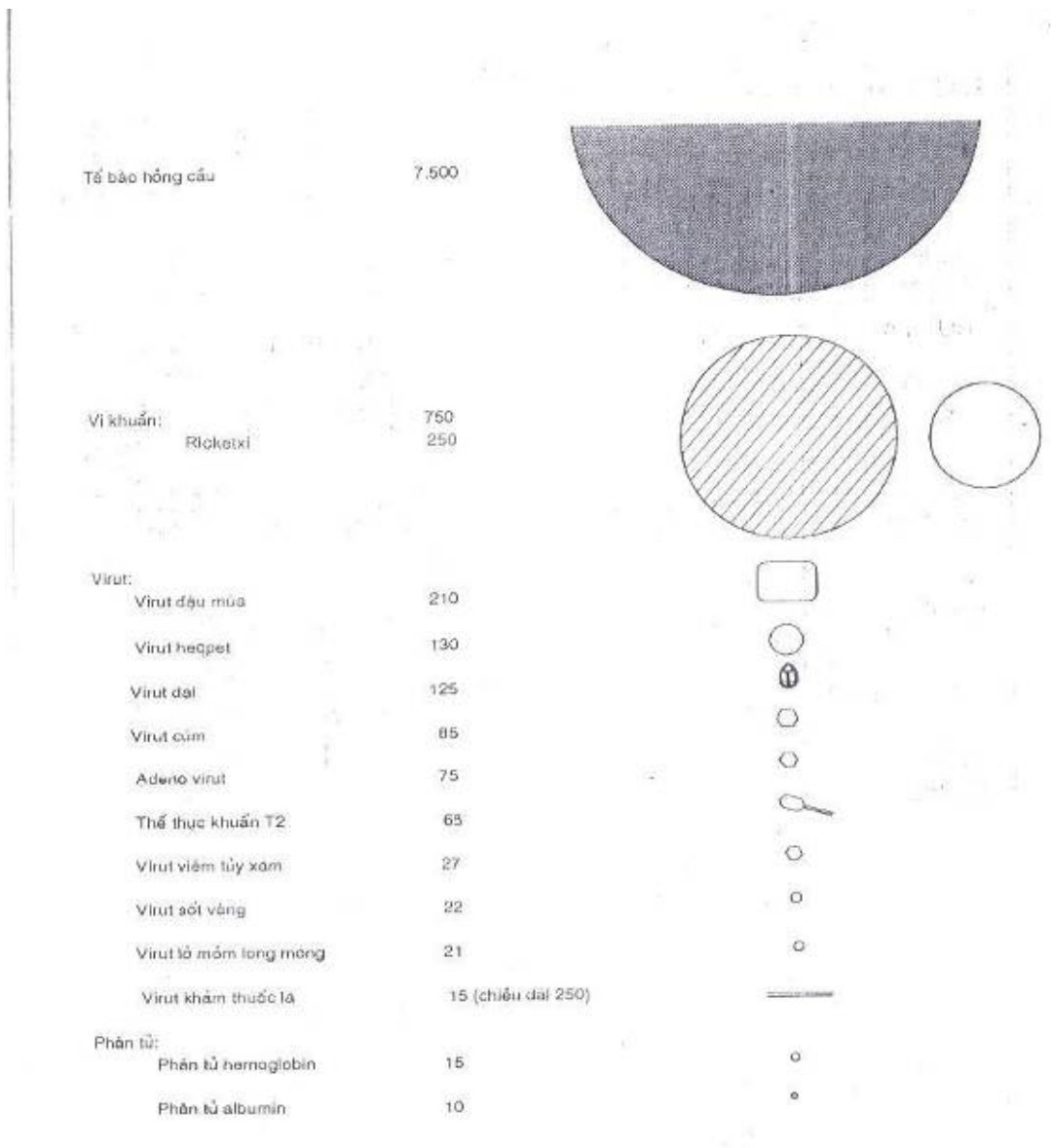
thông tin di truyền : ARN - AND. Sau đây là đặc điểm kích thước và cấu trúc của một số virus điển hình:

Bảng 1.1

Virus	Axit nucleic	Kiểu đối xứng	Kích thước (nm)
VR đậu mùa	AND	Khối	230 x 300
VR cúm	ARN	Xoắn	80 x 200
VR đốm thuốc lá	ARN	Xoắn	200 x 300
VR khoai tây	ARN	Xoắn	480 x 500
TKT T4	AND	Khối và xoắn	Đầu : 65 x 95 Đuôi : 8 x 95

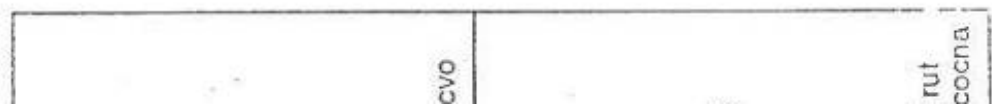
Trong thành phần Protein của virus có 2 loại - Protein cấu trúc và Protein men. Protein cấu trúc cấu tạo nên vỏ capsit từ các đơn vị hình thái capsome và vỏ trong ở một số loại virus có vỏ trong. Protein men bao gồm men ATP - aza và men Lizozym.


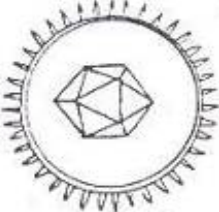
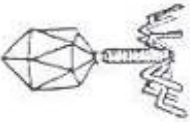



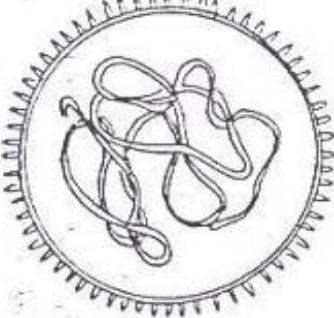

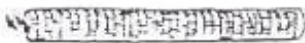





ATP - aza có chức năng phân huỷ ATP giải phóng năng lượng cho virus co rút lúc xâm nhập vào tế bào chủ. Lizozym có chức năng phân huỷ màng tế bào vật chủ



Hình 1.3 So sánh kích thước của virut với phân tử sống và vi khuẩn hồng cầu

Hình 1.4 : Cấu trúc của các loại vi rút khác nhau



<div>       </div>	<div>         </div>
---	---

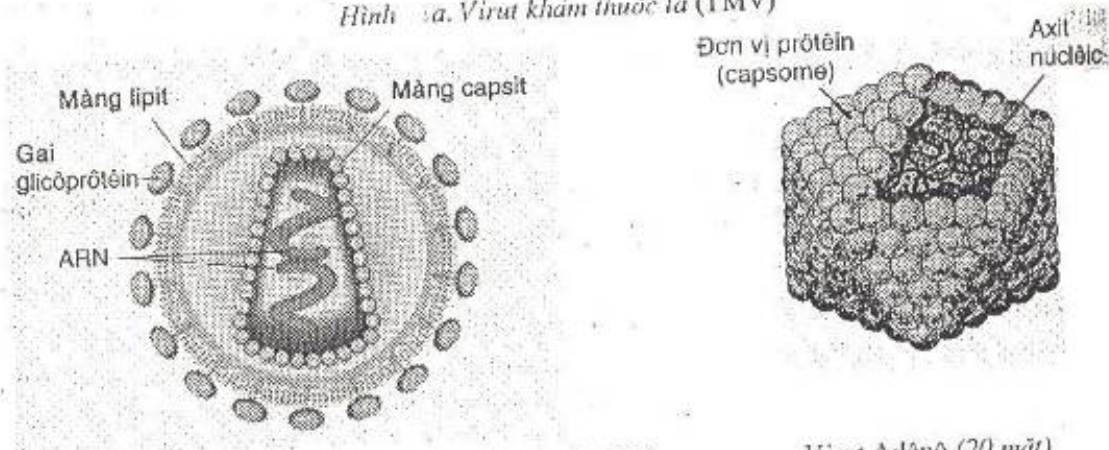
Một số virus điển hình

Dựa vào hình thái ngoài của virus người ta chia virus làm 3 loại: hình trụ xoắn, hình khối đa diện và dạng phối hợp. Riêng hình khối đa diện chúng ta xét 2 đại diện virus Adêno và virus trần là HIV là một dạng virus có vỏ bọc. Còn virus hình trụ xoắn chúng ta nghiên cứu đại diện là virus khảm thuốc lá và dạng phối hợp là phagơ T2 là một loại phagơ ở E.Coli.

Hình 1.6. Hình thái và cấu trúc phân tử của HIV
Hình 1.5. Virus khảm thuốc lá (TMV)
Hình 1.7 c. Virut của E. coli (Phagơ)

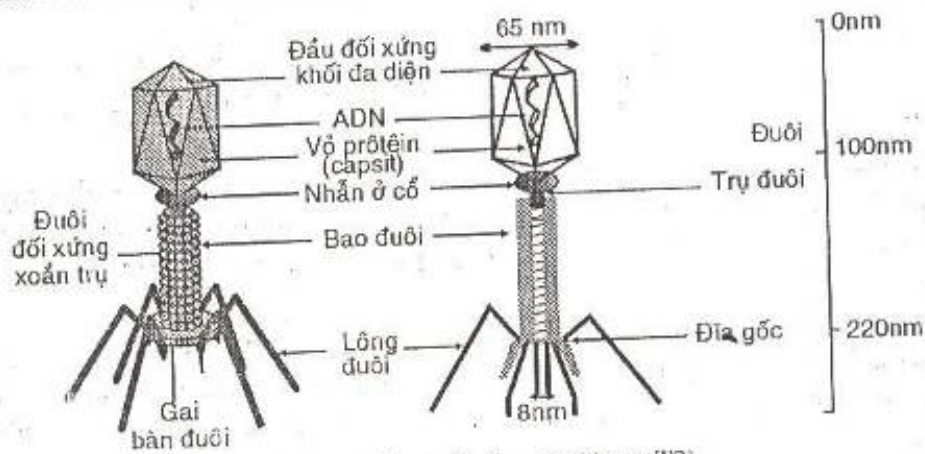


Hình 1a. Virus khảm thuốc lá (TMV)



Hình 1b. Hình thái và cấu trúc phân tử của HIV

Virus Adêno (20 mặt)



Hình 1c. Virus của E. coli (Phage T2)

Quá trình hoạt động của virus trong tế bào chủ

Virus không có khả năng sống độc lập, chúng sống ký sinh trong tế bào sống. Kết quả của quá trình ký sinh có thể xảy ra 2 khả năng: Khả năng thứ nhất là phá vỡ tế bào làm tế bào chết và tiếp tục xâm nhập rồi phá vỡ các tế bào lân cận. Khả năng thứ 2 là tạo thành trạng thái tiềm tan trong tế bào chủ, nghĩa là tạm thời không phá vỡ tế bào mà chỉ hoạt động

sinh sản cùng nhịp điệu với tế bào chủ. Ở những điều kiện môi trường nhất định, trạng thái tiềm tan có thể biến thành trạng thái tan phá vỡ tế bào. Những virus có khả năng phá vỡ tế bào gọi virus độc, những virus có khả năng tạo nên trạng thái tiềm tan gọi là virus không độc.

Quá trình hoạt động của virus độc

Quá trình của virus độc chia làm 4 giai đoạn:

- Giai đoạn hấp thụ của hạt virus tự do trên tế bào chủ: Các hạt virus tự do tồn tại ngoài tế bào không có khả năng hoạt động, chúng ở trạng thái tiềm sinh gọi là hạt Virion. Khi gặp tế bào chủ, phụ thuộc vào tần số va chạm giữa hạt virion và tế bào, va chạm càng nhiều càng có khả năng tìm ra các điểm thụ cảm trên bề mặt tế bào gọi là các receptor. Lúc đó điểm thụ cảm của tế bào chủ và gốc đuôi của virus kết hợp với nhau theo cơ chế kháng nguyên - kháng thể nhờ có thành phần hoá học phù hợp với nhau. Kết quả là virus bám chặt lên bề mặt tế bào chủ. Mỗi loại virus có khả năng hấp thụ lên một hoặc vài loại tế bào nhất định. Điều này giải thích được tại sao mỗi loại virus chỉ gây bệnh cho một vài loại nhất định.

- Giai đoạn xâm nhập của virus vào tế bào chủ:

Quá trình xâm nhập của virus vào tế bào chủ xảy ra theo nhiều cơ chế khác nhau phụ thuộc vào từng loại virus và tế bào chủ.

Ở thực khuẩn thể T4 sau khi virus bám vào điểm thụ cảm của tế bào chủ, nó tiết ra men Lizozym thuỷ phân thành tế bào vi khuẩn. Sau đó dưới tác dụng của ATP - azo bao đuôi của phage co rút làm cho trụ đuôi xuyên qua thành tế bào và phân tử ADN được bơm vào bên trong tế bào chủ. Vỏ capxit vẫn nằm ở ngoài. Người ta chứng minh được cơ chế trên nhờ phương pháp nguyên tử đánh dấu.

Ngoài cơ chế trên còn có một số cơ chế khác: ở một số virus động vật, sau khi tiết ra men phân huỷ thành tế bào chủ, toàn bộ hạt virion lọt vào trong tế bào, sau đó các men bên trong tế bào mới tiến hành phân huỷ vỏ Capxit giải phóng ADN. Người ta gọi là quá trình này là quá trình “cởi

áo”. Một số tế bào chủ lại có khả năng bao bọc virion rồi “nuốt” theo kiểu thực bào. Sau đó có quá trình “cởi áo” giải phóng ADN của virus.

- Giai đoạn sinh sản của virus trong tế bào chủ (sao chép và nhân lên).

Quá trình sinh sản của virus còn gọi là sự nhân lên của chúng. Đây là vấn đề rất hấp dẫn của sinh học phân tử trong thời gian gần đây. Bằng các phương pháp hiện đại người ta đã làm sáng tỏ quá trình nhân lên của virus. Sau khi phân tử ADN của virus lọt vào tế bào chủ, quá trình tổng hợp ADN của tế bào chủ lập tức bị đình chỉ. Sau đó quá trình tổng hợp protein của tế bào cũng ngừng và bắt đầu quá trình tổng hợp các enzym này còn gọi là protein sớm vì nó là những protein được tổng hợp đầu tiên sau quá trình xâm nhập. Khi các enzym này được hoàn thành, bắt đầu xúc tác cho quá trình tổng hợp ADN của virus bằng nguyên liệu ADN của tế bào chủ bị phân huỷ. Sau khi các phân tử ADN virus được tổng hợp đến một số lượng nhất định quá trình này ngừng và bắt đầu quá trình tổng hợp Protein muộn bao gồm vỏ Capxit của virus và các enzym có trong thành phần của virus trưởng thành. Các quá trình này được tiến hành do sự điều khiển của bộ gen virus. Như vậy, 2 phần vỏ và lõi virus được tổng hợp riêng biệt.

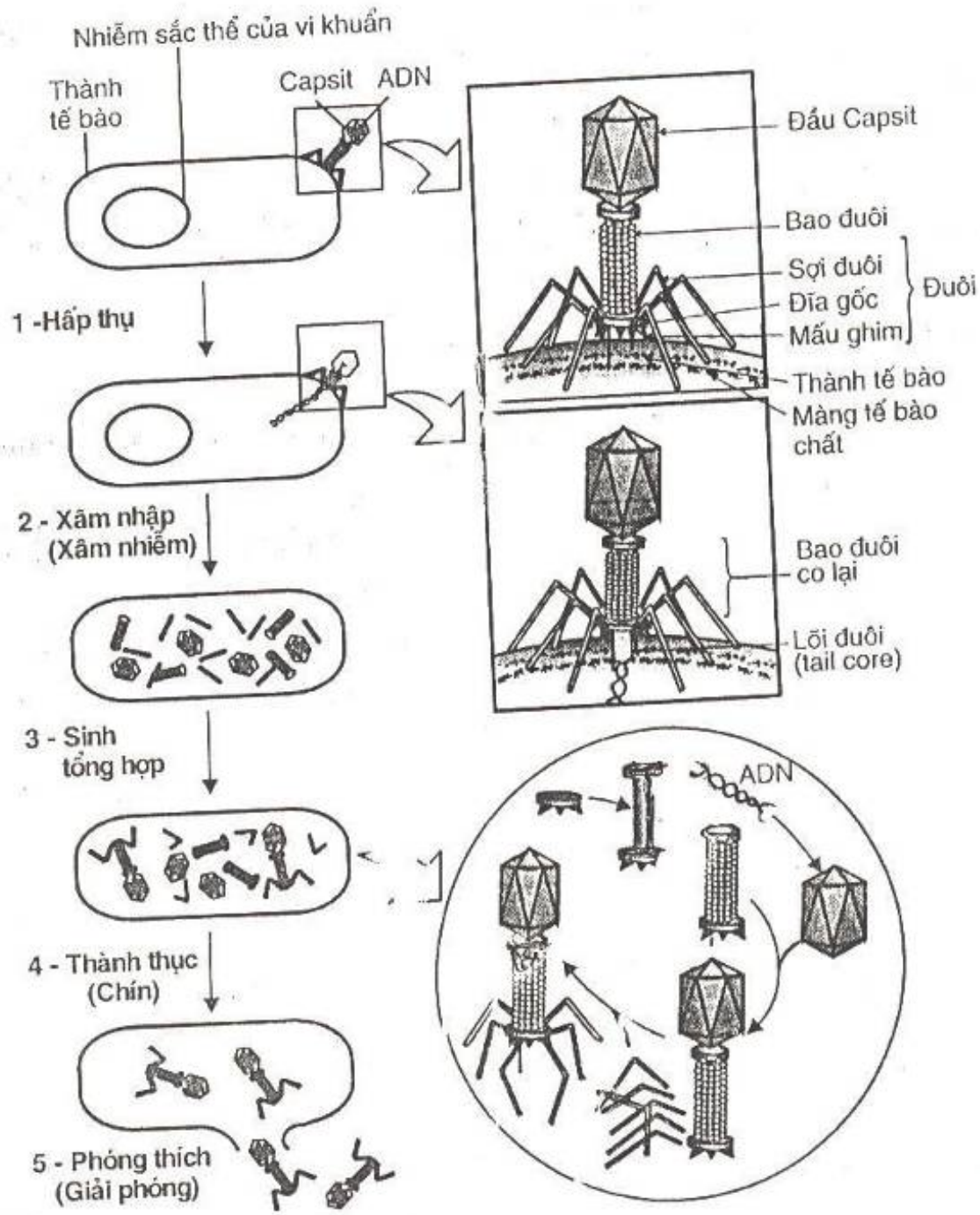
- Giai đoạn lắp ráp hạt virus và giải phóng chúng ra khỏi tế bào: Giai đoạn này còn gọi là sự chín của virus. Sau khi các bộ phận của virus được tổng hợp riêng biệt (axit nucleic, vỏ capxit, bao đuôi, đĩa gốc, lông đuôi) các thành phần lắp ráp lại với nhau thành hạt virus trưởng thành, kết thúc thời kỳ tiềm ẩn, tức là thời kỳ trong tế bào chưa xuất hiện virus trưởng thành. Thời kỳ tiềm ẩn kéo dài bao lâu tùy thuộc từng loại virus/ Trong nhiều trường hợp các virus trưởng thành tiết men lizozym phân huỷ thành tế bào và ra ngoài, tế bào bị phá vỡ. Các virus con tiếp tục xâm nhập vào các tế bào xung quang và phá vỡ chúng. Ở một số virus, virus trưởng thành không phá vỡ tế bào mà chui ra qua lỗ liên bào sang tế bào bên cạnh hoặc được phóng thích nhờ quá trình đào thải của tế bào. Trong tế bào đầu tiên vẫn tiếp tục quá trình tổng hợp virus mới. Ở cả 2 cơ chế, tế bào chủ sớm muộn cũng bị chết hàng loạt. Đó là quá trình hoạt động của virus độc. Sau đây ta nghiên cứu quá trình hoạt động của virus không độc.

Quá trình hoạt động của virus không độc

Virus không độc còn gọi là virus ôn hoà, hoạt động của nó không làm chết tế bào chủ mà chỉ gây nên trạng thái tiềm tan, gọi là trạng thái Lyzogen. Virus sống chung với tế bào chủ, sinh sản cùng nhịp điệu với nó.

Hiện tượng Lyzogen được phát hiện trên vi khuẩn, các phage này được gọi là phage ôn hoà hoặc prophage. Tế bào có chứa prophage có khả năng miễn dịch với các phage khác. Nguyên nhân của hiện tượng này là do prophage có khả năng tổng hợp nên các protein có tác dụng kìm hãm sự nhân lên của virus lạ cũng như bản thân prophage. Một số tác nhân đột biến làm mất hoạt tính hoặc làm ngừng sự tổng hợp chất kìm hãm trên, dẫn đến sự thay đổi trạng thái Lyzogen, tức là biến trạng thái tiềm tan thành trạng thái tan. Lúc đó phage ôn hoà biến thành phage độc và tế bào chủ sẽ bị phá vỡ. Quá trình này ngoài tác nhân đột biến còn phụ thuộc vào hệ gen của prophage và trạng thái sinh lý của tế bào cũng như đặc điểm nuôi cấy. Bởi vậy, cùng một loài vi khuẩn, có những chủng cảm ứng với phage, có chủng không. Khi nuôi chung hai chủng với nhau trên môi trường thạch đĩa có thể thấy rõ những vết bị tan trong thảm vi khuẩn không bị tan. Trong điều kiện tự nhiên, tần số biến trạng thái tiềm tan thành trạng thái tan chỉ là 10^{-2} - 10^{-5} .

SỰ NHÂN LÊN CỦA VIRUS TRONG TẾ BÀO CHỦ



Hình 1.5 Các giai đoạn xâm nhiễm và phát triển của phagơ

Hình 1.8 Các giai đoạn xâm nhiễm và phát triển của phagơ

Hiện tượng Interference và ứng dụng của nó

Interference là hiện tượng khi gây nhiễm một loại virus cho tế bào thì việc gây nhiễm virus khác sẽ bị ức chế. Hiện tượng ức chế này không có tính đặc hiệu đối với virus. Các virus hoàn toàn khác nhau có thể ức chế nhau, ví dụ virus AND có thể ức chế sự xâm nhiễm của virus ARN và ngược lại. Một virus đã bị làm bất hoạt bởi tia cực tím vẫn có khả năng gây ra hiện tượng Interference đối với virus sống. Song hiện tượng này lại có tính đặc hiệu đối với loài thuộc tế bào chủ. Chất ức chế gọi là Interferon sinh ra bởi tế bào thuộc loài nào thì chỉ có tác dụng đối với các tế bào thuộc loại ấy. Ví dụ Interferon sinh ra ở tế bào gà thì không có tác dụng ức chế ở tế bào bò hoặc lợn.

Interferon là một loại protein đặc biệt được sinh ra trong tế bào sau khi bị nhiễm virus. Chính nó đã ức chế quá trình tổng hợp ARN của virus lạ, từ đó không thể có quá trình tổng hợp AND hay protein. Bởi vậy mà virus lạ có thể xâm nhập vào tế bào nhưng không phát triển nhân lên được. Cường độ của hiện tượng này phụ thuộc vào số lượng virus gây nhiễm lần thứ 1 và thời gian từ lúc đó đến lúc gây nhiễm lần thứ 2, thường khoảng 2 giờ thì có tác dụng.

Người ta đã ứng dụng hiện tượng Interference trong việc phòng chống bệnh do virus gây nên. Chất Interferon có thể ức chế rộng rãi nhiều loại virus khác nhau vì nó không có tính đặc hiệu đối với virus mà chỉ có tính đặc hiệu đối với tế bào chủ.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của virus

- Ý nghĩa khoa học

Virus có cấu tạo vô cùng đơn giản, điển hình cho sự sống ở mức độ dưới tế bào. Bởi thế mà nó trở thành mô hình lý tưởng của sinh học phân tử và di truyền học hiện đại. Rất nhiều thành tựu của sinh học phân tử và di truyền học hiện đại dựa trên mô hình virus. Ví dụ như việc dùng virus để chuyển các gen cần thiết từ tế bào này sang tế bào khác, tạo nên các đặc tính di truyền mong muốn.

- Ý nghĩa thực tiễn

Rất nhiều bệnh tật của con người, động vật, thực vật mà nguyên nhân gây ra là virus. Đặc điểm sống của virus là ký sinh trên tế bào, bởi vậy chữa bệnh do virus gây ra là rất khó khăn và phức tạp. Đối với người một trong những căn bệnh nguy hiểm nhất hiện nay là AIDS do virus HIV gây ra. Loại virus này làm suy giảm khả năng miễn dịch làm cho người bị bệnh AIDS có thể chết bởi bất cứ một bệnh thông thường nào khác mà bình thường cơ thể có thể chống chịu được. Đối với nông nghiệp, hầu hết các bệnh nguy hiểm cho cây trồng đều do virus gây ra làm giảm năng suất mùa màng, nhiều khi bị thất thu hoàn toàn.

Tuy nhiên, có thể ứng dụng hiện tượng Interference để chế các vaccin chống virus gây bệnh. Vaccin này ưu việt hơn vaccin chế từ vi khuẩn ở chỗ một loại vaccin có thể phòng nhiều bệnh virus khác nhau.

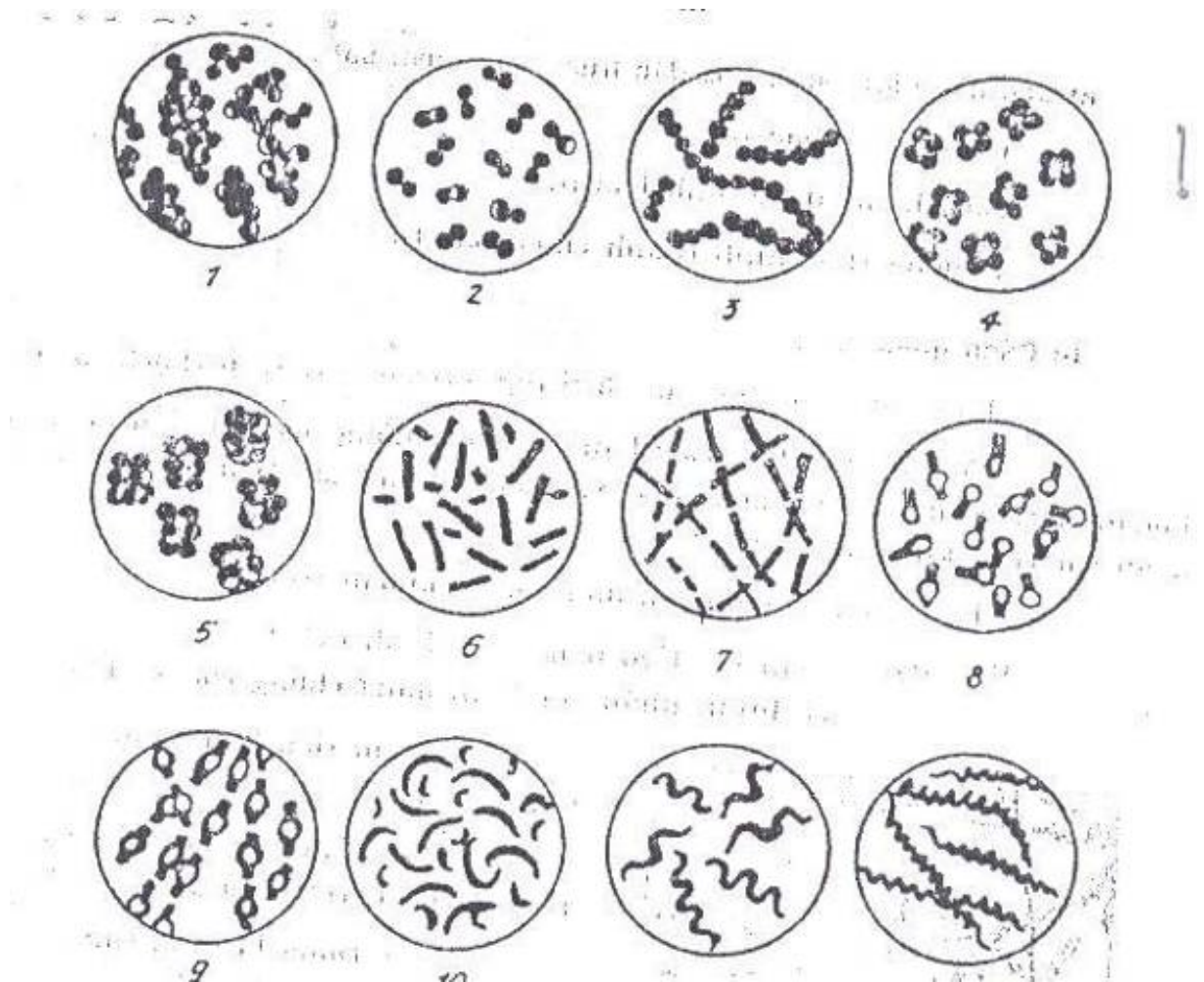
Ngoài ra, người ta còn dùng các virus gây bệnh côn trùng để tiêu diệt côn trùng có hại mà vẫn giữ được các loại côn trùng khác trong mối cân bằng sinh thái. Đó là một ưu điểm đáng kể so với các thuốc hoá học diệt côn trùng có khả năng tiêu diệt nhiều loại côn trùng một lúc, cả có ích lẫn có hại. Điều đó ảnh hưởng không nhỏ đến cân bằng sinh thái trong thiên nhiên.

Vi khuẩn (Bacteria)

Vi khuẩn là nhóm vi sinh vật có cấu tạo tế bào nhưng chưa có cấu trúc nhân phức tạp, thuộc nhóm Prokaryotes. Nhân tế bào chỉ gồm một chuỗi AND không có thành phần protein không có màng nhân.

Hình thái và kích thước

Vi khuẩn có nhiều hình thái khác nhau: hình cầu, hình que, hình xoắn, hình dấu phẩy, hình sợi ... Kích thước thay đổi tùy theo các loại hình và trong một loại hình kích thước cũng khác nhau. So với virus, kích thước của vi khuẩn lớn hơn nhiều, có thể quan sát vi khuẩn dưới kính hiển vi quang học. Dựa vào loại hình có thể chia ra một số nhóm sau:



Hình 1.9. Các hình dạng chính của vi khuẩn

- Cầu khuẩn 1, 2, 3, 4, 5

- Trục khuẩn 6, 7, 8, 9

- Xoắn khuẩn 10, 11, 12

1. Cầu khuẩn (Coccus - từ tiếng Hy Lạp Kokkos - hạt quả): là loại vi khuẩn có hình cầu. Nhưng có nhiều loại không hẳn hình cầu thí dụ như hình ngọn nến như phế cầu khuẩn - *Diplococcus pneumoniae* hoặc hạt cà phê (lậu cầu khuẩn *Neisseria gonorrhoeae*).

Kích thước của vi khuẩn thường thay đổi trong khoảng 0,5 ($1 = 10^{-3}$ mm). Tùy theo từng loài mà chúng có những dạng khác nhau.

Đặc tính chung của cầu khuẩn:

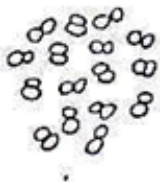
- Tế bào hình cầu có thể đứng riêng rẽ hay liên kết với nhau.
- Có nhiều loài có khả năng gây bệnh cho người và gia súc
- Không có cơ quan di động.
- Không tạo thành bào tử.



Giống Monococcus

Thường đứng riêng lẻ từng tế bào một, đa số chúng thuộc loại hoại sinh. Thường thấy chúng sống trong đất, nước và trong không khí (Thí dụ như *Micrococcus agilis*, *M. roseus*, *M. luteus*)

Giống Diplococcus



(Từ tiếng Hy Lạp - Diplos - thành đôi) phân cách theo một mặt phẳng xác định và dính nhau thành từng đôi một. Trong số này có một số có khả năng gây bệnh như giống *Neisseria* - Lậu cầu khuẩn *N meningitidis* *gonorrhoeae* - Não mô cầu khuẩn).



Giống Tetracoccus

Thường liên kết với nhau thành từng nhóm 4 tế bào một. Chúng thường gây bệnh cho người và một số có thể gây bệnh cho động vật.



Giống Streptococcus

Từ tiếng Hy Lạp (Streptos - chuỗi) chúng phân cách theo một mặt phẳng xác định và dính với nhau thành từng chuỗi một dài. Thí dụ như Streptococcus lactic. Strep-pyogenes.



Giống Sarcina

Từ tiếng Hy Lạp Saricio - gói hàng. Phân cách theo 3 mặt phẳng trực giao với nhau, tạo thành những khối từ 8 - 16 tế bào (hoặc nhiều hơn nữa). Trong không khí chúng ta thường gặp một số loài như Sarcinalutea, Sarcina auratiaca. Chúng thường nhiễm vào các môi trường để trong phòng thí nghiệm và tạo thành màu vàng.

Giống Staphilococcus



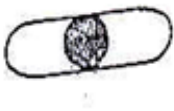
Từ tiếng Hy Lạp Staphile - chùm nho. Thường chúng liên kết với nhau thành những đám trông như chùm nho. Chúng phân cách theo một mặt phẳng bất kỳ và sau đó dính lại với nhau thành từng đám như hình chùm nho. Bên cạnh các loài hoại sinh còn có một số loài gây bệnh ở người và động vật (Staph. Curcreus, Staph. Emidermidis ...)

2. Trực khuẩn

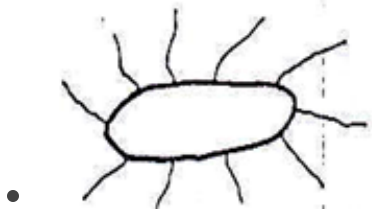
Là tên chung chỉ tất cả các vi khuẩn có hình que. Kích thước của chúng thường từ 0,5 - 1,0 x 1 - 4 .

Thường gặp các loài trực khuẩn sau đây:

- Bacillus (Viết tắt là Bac)

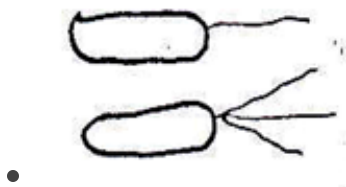


trực khuẩn gram dương, sinh bào tử. Chiều ngang của bào tử không vượt quá chiều ngang của tế bào. Vì thế khi tạo thành bào tử tế bào không thay đổi hình dạng chúng thường thuộc loài hiếu khí hoặc kỵ khí không bắt buộc.



- Bacterium (viết tắt là Bact)

Trực khuẩn gram âm không sinh bào tử. Thường có tiên mao mọc xung quanh tế bào người ta gọi là chu mao. Các giống *Salmonella*, *Shigella*, *Erwinia*, *Serratia* đều có hình thái giống Bacterium.



- Pseudomonas (viết tắt là Ps)

Trực khuẩn gram âm, không sinh bào tử, có một tiên mao (hoặc một chùm tiên mao) ở một đầu. Chúng thường sinh ra sắc tố. Các giống *Xanthomonas*, *Photobacterium*, *Azotomonas*, *Aeromonas*, *Zymomonas*, *Protaminobacter*, *Alginomonas*, *Mycoplazma*, *Halobacterium*, *Methanomonas*, *Hydroginomonas*, *Carloxydomonas*, *Acetobacter*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* đều có hình thái giống Pseudomonas.

- Corynebacterium

Không sinh bào tử, hình dạng và kích thước thay đổi khá nhiều. Khi nhuộm màu tế bào thường tạo thành các đoạn nhỏ bắt màu khác nhau. Trực khuẩn bạch cầu (*Corynebacterium diphtheriae*) có bắt màu ở hai đầu làm tế bào có hình dạng giống quả tạ. Một số khác có hình thái giống Corynebacterium gồm có *Listeria*, *Erysipelothric*, *Microbacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter*.

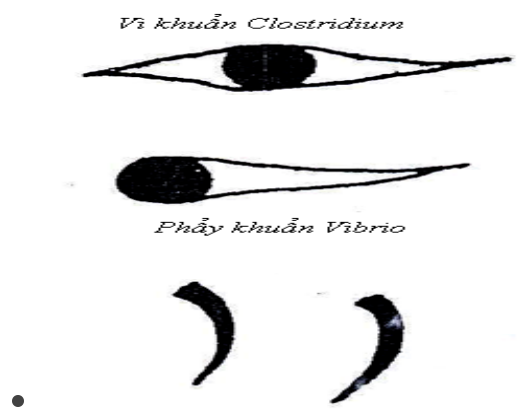


- Clostridium (Viết tắt là Cl, tiếng Hy Lạp Kloster - con thoi)

Thường là trực khuẩn gram dương. Kích thước thường vào khoảng 0,4 - 1 x 3- 8

Sinh bào tử, chiều ngang của bào tử thường lớn hơn chiều ngang của tế bào, do đó làm tế bào có hình thoi hay hình dùi trống.

Chúng thường thuộc loại kỵ khí bắt buộc, có nhiều loài có ích. Thí dụ như các loài cố định nitơ. Một số loài khác gây bệnh. Thí dụ vi khuẩn uốn ván ... Cl. Botulium



•

Phẩy khuẩn

Là tên chung chỉ các vi khuẩn hình que uốn cong giống như dấu phẩy. Giống điển hình là giống Vibrio (Từ chữ La tinh Vibrare - dao động nhanh). Một số giống phẩy khuẩn có khả năng phân giải xenluloza (Cellvibrio, Cellfalcicula) hoặc có khả năng khử sunfat (Desulfovibrio).

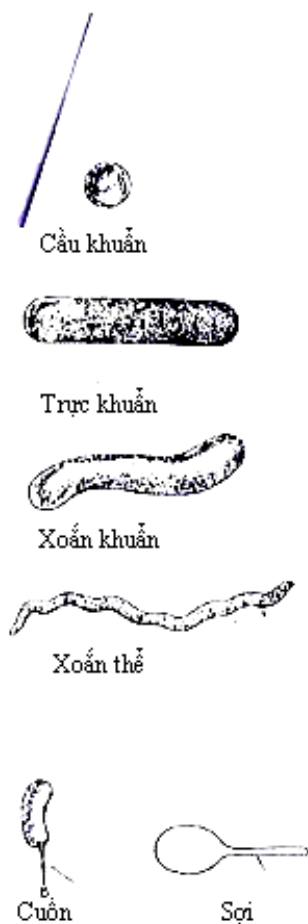
Xoắn khuẩn



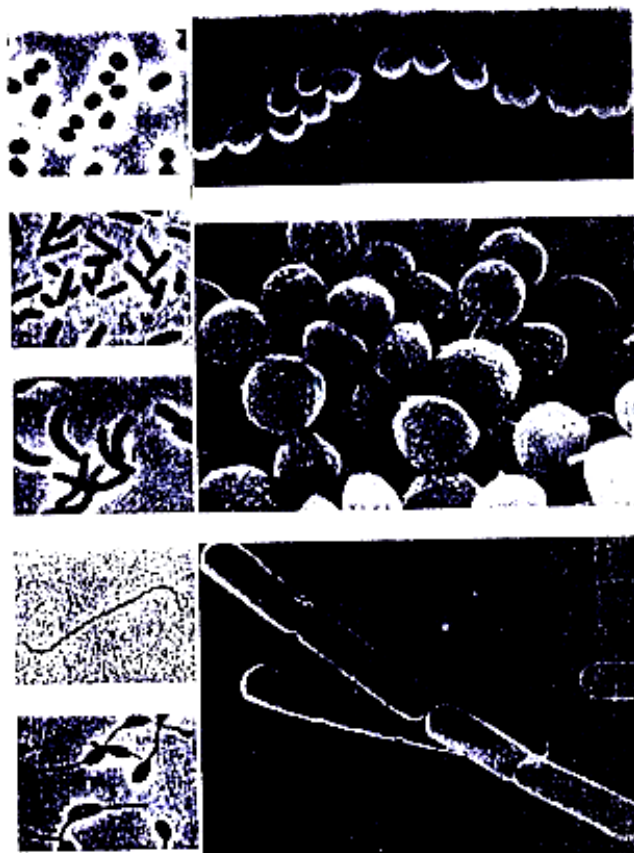
Xoắn khuẩn

Spirillum - Từ chữ Spira - Hình cong, xoắn gồm tất cả các vi khuẩn có hai vòng xoắn trở lên. Là loại gram dương, di động được nhờ có một hay nhiều tiên mao mọc ở đỉnh.

Đa số chúng thuộc loại hoại sinh, một số rất ít có khả năng gây bệnh (SP. Minus) có kích thước thay đổi 0,5 - 3,0 - 5 - 40 .



Các nhóm hình thái chủ yếu của vi khuẩn



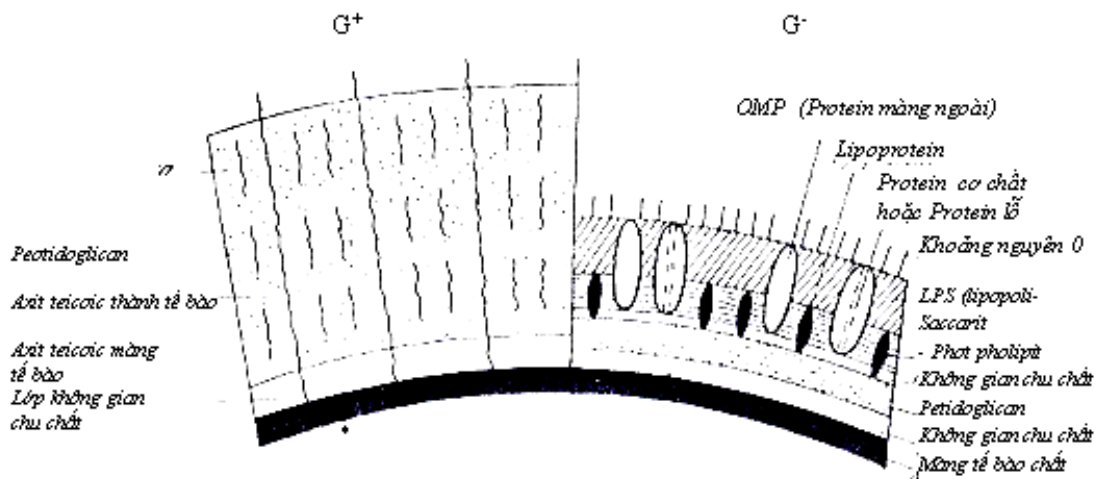
Chụp qua kính hiển vi điện tử quét từ trên xuống:
Liên cầu khuẩn, Tụ cầu khuẩn, Liên trục khuẩn



Hình 1.11 Các loại vi khuẩn



Hình 1.12 Mô hình cấu trúc tế bào vi khuẩn



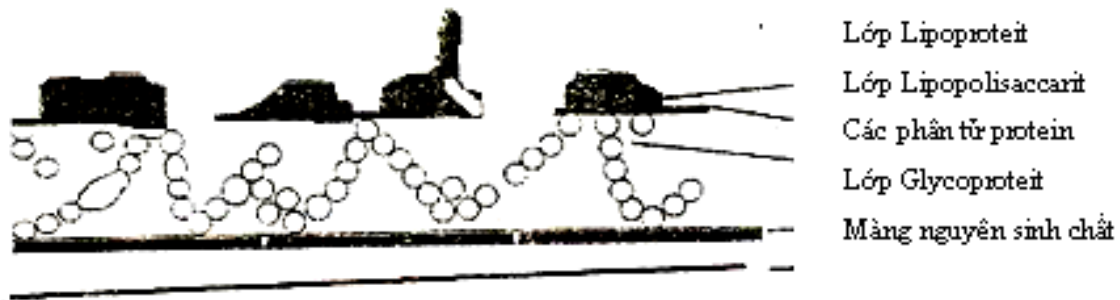
Hình 1.12 Mô hình cấu của thành tế bào vi khuẩn G⁺ và vi khuẩn G⁻

Cấu tạo tế bào

1. Thành tế bào

Thành tế bào là lớp ngoài cùng bao bọc vi khuẩn, giữ cho chúng có hình dạng nhất định, chiếm 15 - 30% trọng lượng khô của tế bào. Thành tế bào có những chức năng sinh lý rất quan trọng như duy trì hình thái tế bào và áp suất thẩm thấu bên trong tế bào, bảo vệ tế bào trước những tác

nhân vật lý, hoá học của môi trường, thực hiện việc tích điện ở bề mặt tế bào. Thành tế bào chính là nơi bám của Phage và chứa nội độc tố của một số vi khuẩn có độc tố. Có một số vi khuẩn không có thành tế bào (Mycoplasma), một số trường hợp vi khuẩn bị phá vỡ thành tế bào mà vẫn sống (Protoplast ...)



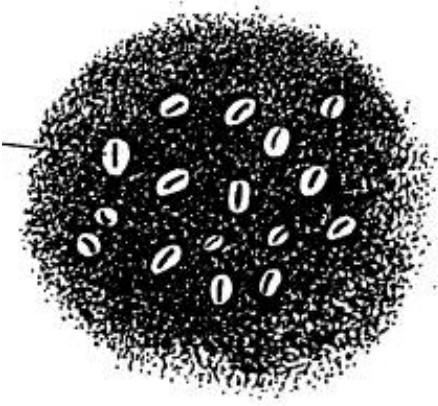
Hình 1.13. Cấu tạo thành tế bào vi khuẩn

Thành phần hoá học của thành tế bào vi khuẩn rất phức tạp, bao gồm nhiều hợp chất khác nhau như Peptidoglycan, Polisaccarit, Protein, Lipoprotein, Axit tecoic, Lipoit v.v.... Dựa vào tính chất hoá học của thành tế bào và tính chất bắt màu của nó, người ta chia ra làm 2 loại Gram + và Gram -. Với cùng một phương pháp nhuộm như nhau, trong đó có hai loại thuốc nhuộm Cristal Violet màu tím và Fushsin màu hồng, vi khuẩn gram + bắt màu tím, vi khuẩn gram - bắt màu hồng. Nguyên nhân là do cấu tạo thành tế bào của hai loại khác nhau. Ngoài hai loại trên, còn có loại gram biến đổi (gram variable) có khả năng biến đổi từ gram + sang gram - và ngược lại. Sau đây là sơ đồ cấu tạo của thành tế bào vi khuẩn E.coli.

2. Vỏ nhầy (Capsul)

Nhiều loại vi khuẩn bên ngoài thành tế bào còn có một lớp vỏ dày hay lớp dịch nhày. Kích thước của lớp vỏ nhày khác nhau tùy theo loài vi khuẩn. Ở vi khuẩn Azotobacter chroococum khi phát triển trên môi trường giàu hydrat cacbon có thể hình thành lớp vỏ nhày dày hơn chính bản thân tế bào.

Vỏ nhày có tác dụng bảo vệ vi khuẩn tránh tác dụng thực bào của bạch cầu. Chính vì thế mà ở một số vi khuẩn gây bệnh chỉ khi có lớp vỏ nhày mới có khả năng gây bệnh. Khi mất lớp vỏ nhày, lập tức bị bạch cầu tiêu diệt khi xâm nhập vào cơ thể chủ. Vi khuẩn có vỏ nhày tạo thành khuẩn lạc trơn bóng khi mọc trên môi trường thạch gọi là dạng S, ngược lại dạng R có khuẩn lạc xù xì.



Hình 1.14. Vỏ nhày của *Klebsiella pneumoniae* trong suốt hiện

Rõ trên nền đen mực đỏ

Vỏ nhày còn là một nơi dự trữ các chất dinh dưỡng. Khi nuôi cấy vi khuẩn có vỏ nhày trên môi trường nghèo dinh dưỡng, lớp vỏ nhày bị tiêu biến dần do bị sử dụng làm chất dinh dưỡng.

Ở một số vi khuẩn vỏ nhày được dùng để bám vào giá thể. Các chất trong vỏ nhày là do thành tế bào tiết ra, thành phần của nó tùy thuộc vào loại vi khuẩn. Đa số trường hợp vỏ nhày được cấu tạo bởi polysaccarit, đôi khi có cấu tạo bởi polypeptit. Thành phần hoá học của vỏ nhày quyết định tính kháng nguyên của vi khuẩn.

3. Màng tế bào chất (Cell membran)

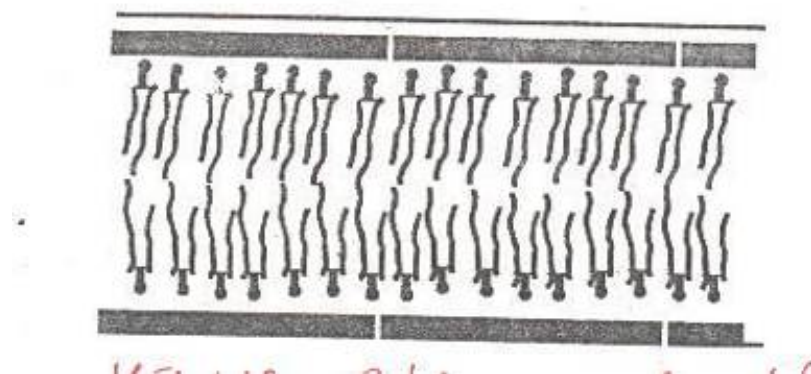
Màng tế bào chất còn gọi là màng nguyên sinh chất là một lớp màng nằm dưới thành tế bào, có độ dày khoảng 4 - 5 nm, chiếm 10 - 15% trọng

lượng tế bào vi khuẩn.

Màng tế bào chất có nhiều chức năng quan trọng: Duy trì áp suất thẩm thấu của tế bào, đảm bảo việc chủ động tích lũy chất dinh dưỡng và thải các sản phẩm trao đổi chất ra khỏi tế bào. Màng tế bào chất là nơi sinh tổng hợp một số thành phần của tế bào, đặc biệt là thành phần của thành tế bào và vỏ nhày, là nơi chứa một số men quan trọng như Permeaza, ATP-aza v.v... Màng tế bào chất còn là nơi tiến hành quá trình hô hấp và quang hợp (ở vi khuẩn quang dưỡng).

Thành phần hoá học của màng tế bào chất đơn giản hơn của thành tế bào nhiều. Bao gồm photpholipit và protein và protein sắp xếp thành 3 lớp: lớp giữa là photpholipit bao gồm hai lớp phân tử mỗi phân tử gồm 1 đầu chứa gốc photphat háo nước và một đầu chứa hydratcacbon, đầu háo nước của hai lớp phân tử photpholipit quay ra ngoài, ở đây chứa các men vận chuyển Pecmeaza. Hai lớp ngoài và trong và Protein.

Protein



PhotpholipitProtein

Hình 1.15. Cấu tạo màng tế bào chất của vi khuẩn

Màng tế bào chất còn là nơi gắn của nhiễm sắc thể. Ngoài hai thành phần chính trên, màng tế bào chất còn chứa một số chất khác như hydratcacbon, glycolipit, v.v...

4. Tế bào chất (Cytoplasm)

Tế bào chất là thành phần chính của tế bào vi khuẩn, đó là một khối chất keo bán lỏng chứa 80 - 90% nước, còn lại là protein, hydratcacbon, lipid, axit nucleic v.v... Hệ keo có tính chất dị thể, trạng thái phân tán, luôn luôn biến đổi phụ thuộc vào điều kiện môi trường. Khi còn non tế bào chất có cấu tạo đồng chất, bắt màu giống nhau. Khi già do xuất hiện không bào và các thể ẩn nhập, tế bào chất có trạng thái lộn nhốn, bắt màu không đều. Tế bào chất là nơi chứa có cơ quan quan trọng của tế bào như: nhân tế bào, Mezoxom, Riboxom và các hạt khác.

5. Mezoxom

Mezoxom là một thể hình cầu trong giống như cái bong bóng gồm nhiều lớp màng cuộn lại với nhau, có đường kính khoảng 250 nm. Mezoxom chỉ xuất hiện khi tế bào phân chia, nó có vai trò quan trọng trong việc phân chia tế bào và hình thành vách ngăn ngang. Ở nhiều loài vi khuẩn, Mezoxom là một thành phần của màng tế bào chất phát triển ăn sâu vào tế bào chất. Một số enzym phân huỷ chất kháng sinh như Penicillinaza được sinh ra từ Mezoxom.

6. Riboxom

Riboxom là nơi tổng hợp protein của tế bào, chứa chủ yếu là ARN và protein.

Ngoài ra có chứa một ít lipid, và một số chất khoáng. Riboxom có đường kính khoảng 200A, cấu tạo bởi 2 tiểu thể - 1 lớn, 1 nhỏ. Tiểu thể lớn có hằng số lắng là 50S, tiểu thể nhỏ 30S (1S = 1-13 cm/giây)

200 A 50 S 30 S 70 S

Mỗi tế bào vi khuẩn có trên 1000 riboxom, trong thời kỳ phát triển mạnh của nó, số lượng riboxom tăng lên. Không phải tất cả các riboxom đều ở trạng thái hoạt động. Chỉ khoảng 5 - 10% riboxom tham gia vào quá trình tổng hợp protein. Chúng liên kết nhau thành một chuỗi gọi là polyxom nhờ sợi ARN thông tin.

Trong quá trình tổng hợp protein, các riboxom trượt dọc theo sợi ARN thông tin như kiểu đọc thông tin. Qua mỗi bước đọc, một axit amin lại được gắn thêm vào chuỗi polypeptit.

8. Thể nhân (Nuclear body)

Vi khuẩn thuộc loại procaryotic, bởi vậy cấu tạo nhân rất đơn giản, chưa có màng nhân. Thể nhân vi khuẩn chỉ gồm một nhiễm sắc thể hình vòng do một phân tử AND cấu tạo nên dính một đầu vào màng tế bào chất không có thành phần protein như nhân tế bào bậc cao. Chiều dài phân tử AND thường gấp 1000 lần chiều dài tế bào, mang toàn bộ thông tin di truyền của tế bào vi khuẩn. Ngoài nhiễm sắc thể, một số vi khuẩn còn có Plasmic, đó là những phân tử AND hình vòng kín kích thước nhỏ, mang thông tin di truyền, có khả năng sao chép độc lập.

Ở những vi khuẩn kháng thuốc, đặc tính kháng thuốc thường được quy định bởi các gen nằm trên các plasmic này.

10. Các hạt khác trong tế bào

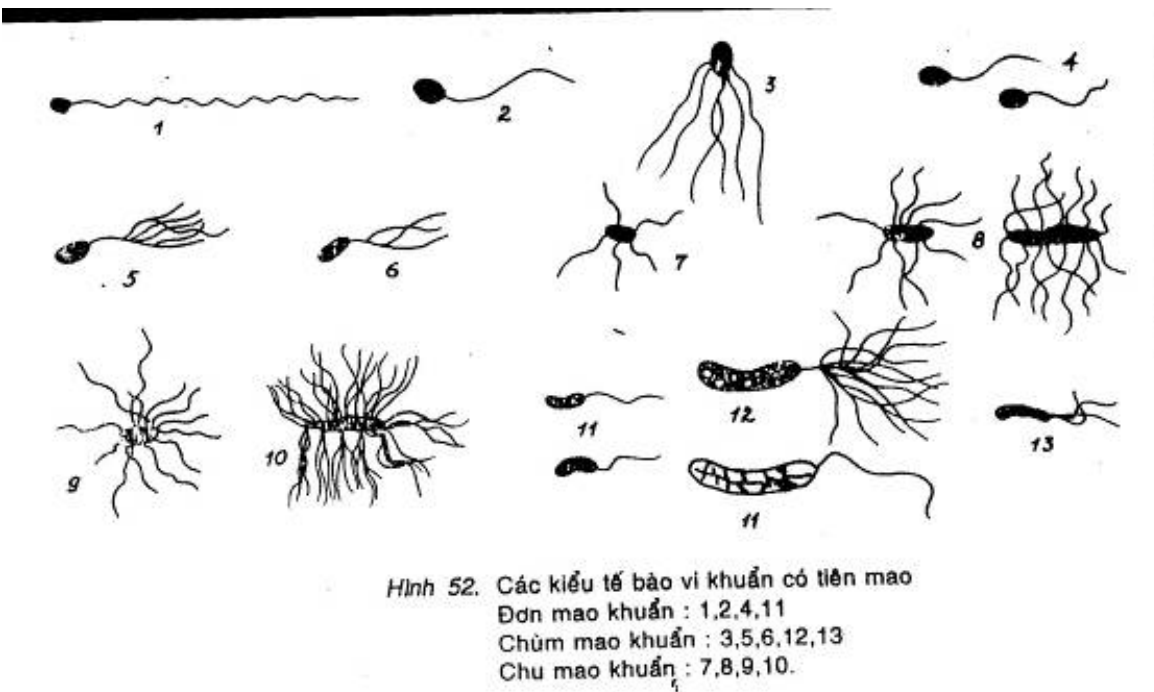
Trong tế bào vi khuẩn ngoài các cấu trúc nói trên còn có một số hạt mà số lượng và thành phần của nó không nhất định. Sự có mặt của chúng phụ thuộc vào điều kiện môi trường và vào giai đoạn phát triển của vi khuẩn. Nhiều loại hạt có tính chất như chất dự trữ, được hình thành khi tế bào tổng hợp thừa các chất đó và được tiêu hao khi tế bào cần đến. Các hạt này bao gồm hạt hydratcacbon, hạt polyphosphat vô cơ, các giọt lipid, lưu huỳnh, các tinh thể Ca và các hạt sắc tố. Đặc biệt, trong tế bào của một số vi khuẩn gây bệnh cho côn trùng (*Bacillus thuringiensis*) còn có các tinh thể diệt côn trùng có hình thoi hoặc hình khối. Sự có mặt của các tinh thể này liên quan đến khả năng gây bệnh côn trùng của vi khuẩn. Người ta đã lợi dụng đặc tính này nghiên cứu, sản xuất ra những chế phẩm diệt côn trùng gây hại.

11. Tiên mao và nhung mao

Tiên mao là những cơ quan di động của vi khuẩn, nhưng không phải tất cả các vi khuẩn đều có tiên mao. Tiên mao thường có chiều rộng 10 - 25

m, chiều dài thay đổi tùy theo loài vi khuẩn. Số lượng tiên mao cũng phụ thuộc vào loài vi khuẩn. Loại có 1 tiên mao gọi là đơn mao, mọc ra ở một cực của tế bào, loại có 2 gọi là song mao mọc ra từ một cực tế bào, loại có nhiều gọi là chùm mao cũng mọc ra từ một cực tế bào, có loại mọc ra từ hai cực của tế bào. Loại mọc quanh mình thành một vành đai như chiếc thắt lưng có lông gọi là chu mao.

Các vi sinh vật khác nhau có số lượng và sự sắp xếp các tiên mao trên tế bào khác nhau.



Hình 1.16. Các kiểu tế bào vi khuẩn có tiên mao
 Đơn mao khuẩn: 1, 2, 4, 11
 Chùm mao khuẩn: 3, 5, 6, 12, 13
 Chu mao khuẩn: 7, 8, 9, 10

Tiên mao có bản chất protein, bị phân giải ở nhiệt độ 600C hoặc ở môi trường axit. Tùy theo kiểu tiên mao mà vi khuẩn có các kiểu di động khác nhau. Loại đơn mao di động theo hình sin, loại chùm mao di động theo kiểu xoáy tròn Ốc v.v....

- Nhung mao: Khác với tiên mao, nhung mao không phải là cơ quan di động của vi khuẩn. Chúng là những sợi lông mọc khắp bề mặt của một số vi khuẩn, làm tăng diện tiếp xúc với thức ăn, ngoài ra còn dùng để bám vào giá thể. Ở một số vi khuẩn, nhung mao còn được dùng làm cầu nối nguyên sinh chất trong quá trình tiếp hợp giữa hai vi khuẩn.

10. Bào tử (Spore)

Bào tử là một hình thức tiềm sinh của vi khuẩn. Khi gặp điều kiện khó khăn, vi khuẩn có khả năng hình thành bào tử. Bào tử được hình thành bên trong tế bào, có khi to hơn kích thước tế bào làm tế bào phình ra so với bình thường. Ví dụ như ở *Clostridium*, khi hình thành bào tử, tế bào hình thành hình dùi trống hoặc hình thoi. Bào tử có 3 lớp vỏ bọc, những lớp vỏ bọc này tránh cho bào tử những tác động của môi trường như: nhiệt độ, pH, tác động của men, v.v.... Ở nhiệt độ 100°C trong khi các tế bào dinh dưỡng bị tiêu diệt thì bào tử *Bacillus cereus* có thể chịu được 2,5 phút, *Bacillus subtilis* thậm chí chịu được 180 phút. Bào tử của vi khuẩn gây ngộ độc ở 180°C vẫn sống được tới 10 phút. Trong phenol 5% tế bào dinh dưỡng chết ngay trong khi bào tử có thể sống được đến 15 ngày.

Sở dĩ bào tử có thể có khả năng chịu được những điều kiện khó khăn vì nó có cấu tạo khác với tế bào. Nước trong bào tử phần lớn ở trạng thái liên kết, trong khi đó nước trong tế bào ở trạng thái tự do. Các enzym trong tế bào phần lớn ở trạng thái không hoạt động. Các thành phần hoá học khác của bào tử cũng khác với tế bào dinh dưỡng. Thí dụ như ở bào tử có hàm lượng ion Ca^{++} cao hơn v.v...

Nguyên nhân của việc hình thành bào tử cho đến nay còn có nhiều tranh luận.

Một số cho rằng tế bào hình thành bào tử khi gặp điều kiện khó khăn nhằm tồn tại qua thời kỳ khó khăn đó. Nhưng một số người khác cho rằng: Sự hình thành bào tử là một hình thức đổi mới tế bào do sự kết hợp của các phần nguyên sinh chất trong quá trình hình thành bào tử mà tế bào được đổi mới, ý kiến này dựa trên một số thí nghiệm bác bỏ luận thuyết trên. Ở một số môi trường dinh dưỡng tốt bào tử lại được hình thành

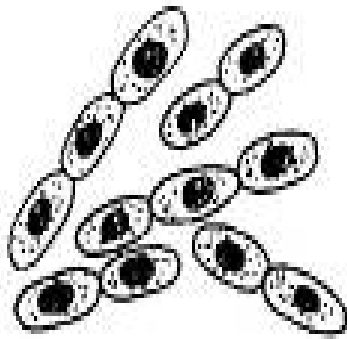
nhiều hơn ở môi trường nghèo dinh dưỡng. Ở đa số vi sinh vật đất, ngay ở những điều kiện bất lợi cũng không thấy hình thành bào tử.

Bào tử khi gặp điều kiện thuận lợi thì nảy mầm thành tế bào dinh dưỡng, bào tử thường nảy mầm ở một cực, có khi nảy mầm ở cả hai phía. Một số vi khuẩn ở những điều kiện nhất định có thể bị mất khả năng hình thành bào tử.

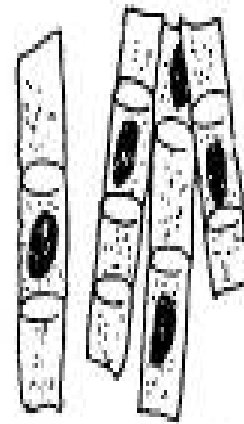
[missing_resource: .jpg]

Hình 1.17. Hình dạng tế bào vi khuẩn mang bào tử

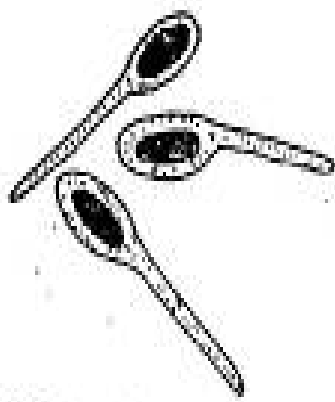
à hình bầu dục.



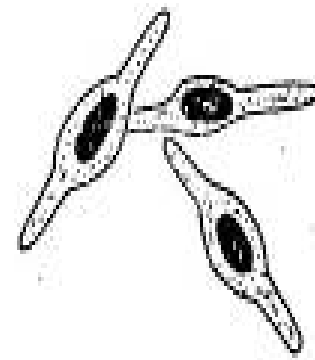
Bacillus cereus



Bacillus anthracis



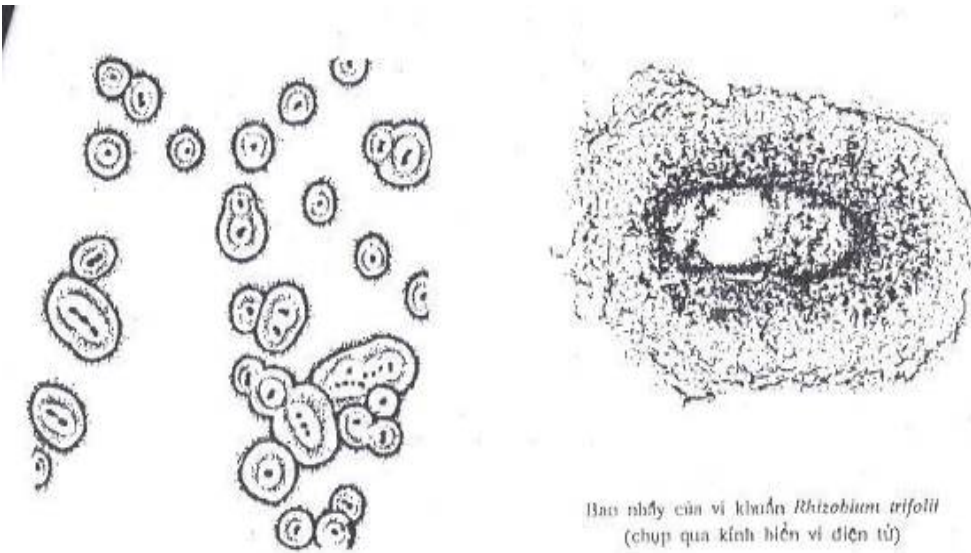
Clostridium tetani



Clostridium perfringens

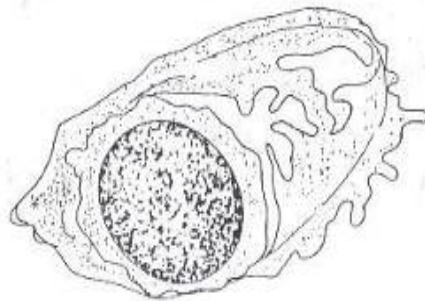
Hình 51. Hình dạng tế bào vi khuẩn mang bào tử

Hình 1.18a. Bao nhày của vi khuẩn

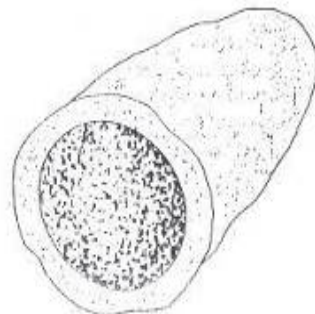


Bao nhầy của vi khuẩn *Rhizobium trifolii*
(chụp qua kính hiển vi điện tử)

Bao nhầy của vi khuẩn *Acinetobacter* sp.
(nhuộm mực tàu và chụp qua kính hiển vi quang học)



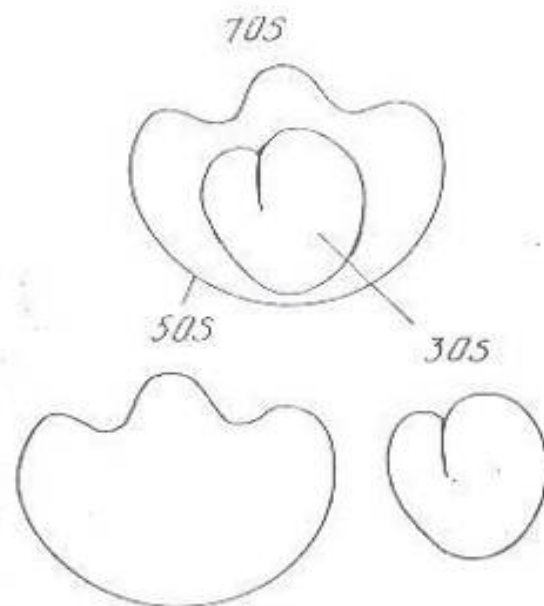
Lớp dịch nhầy



Bao nhầy

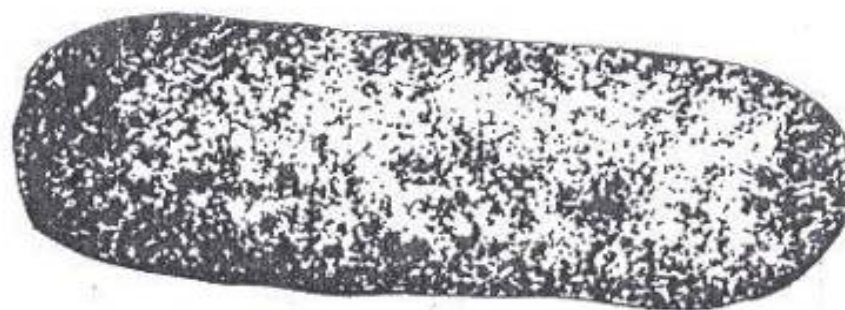
Hình 1.18b. Riboxom của vi khuẩn

Hình 1.18c. Thể nhân ở vi khuẩn (ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử lát cắt mỏng qua tế bào E.coli)

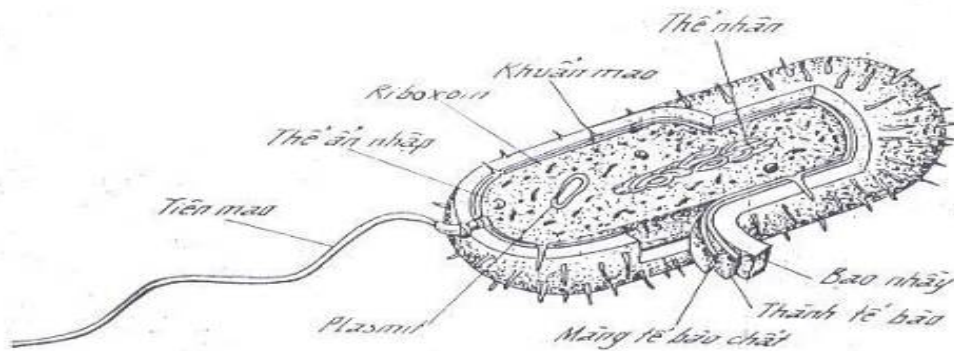


Hình 1.16

Riboxom của vi khuẩn

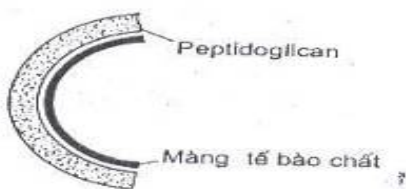


Hình 1.20. Sự khác nhau giữa màng tế bào vi khuẩn Gr (-) và vi khuẩn Gr (+)
(+)Hình 1.19. Sơ đồ cấu trúc tế bào vi khuẩn



Hình 1.19 Sơ đồ cấu trúc tế bào vi khuẩn

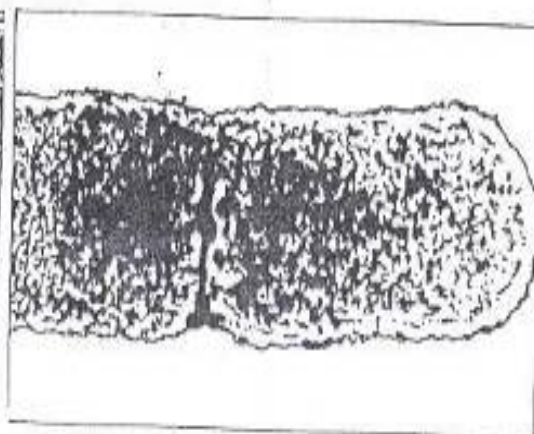
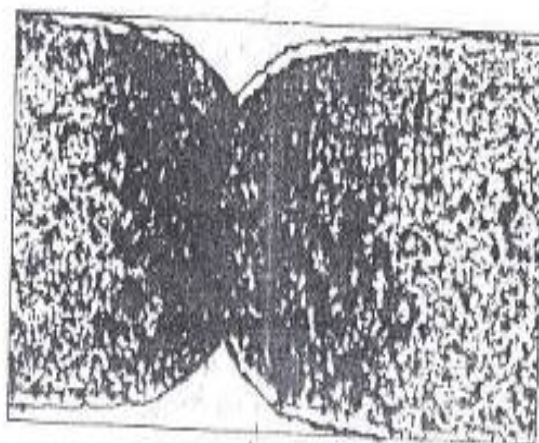
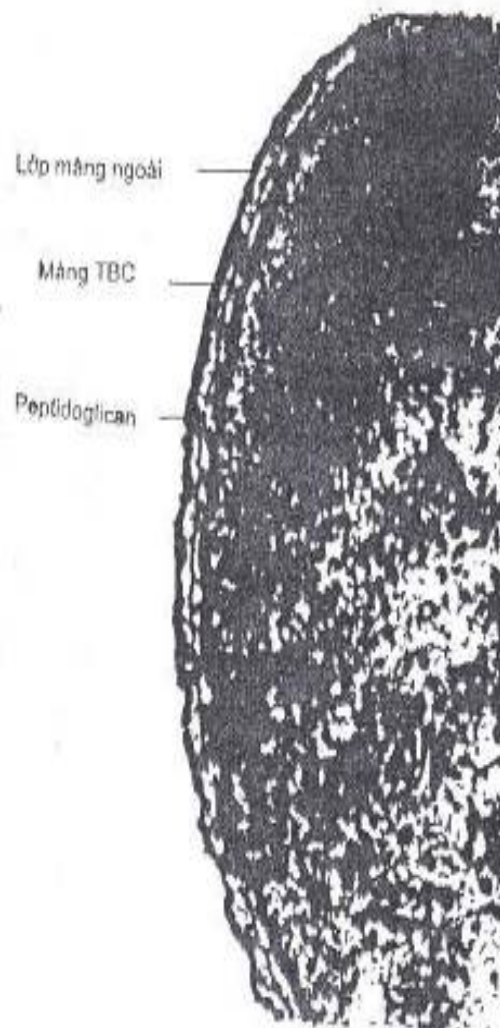
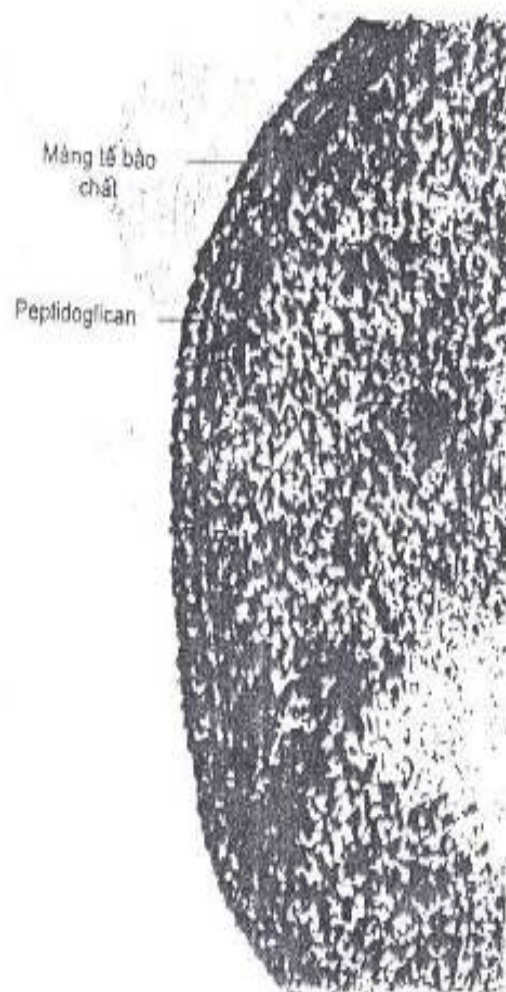
VI KHUẨN G^+
(*throbacter crystallopoietes*)



VI KHUẨN G^-
(*Leuwthrix mucori*)

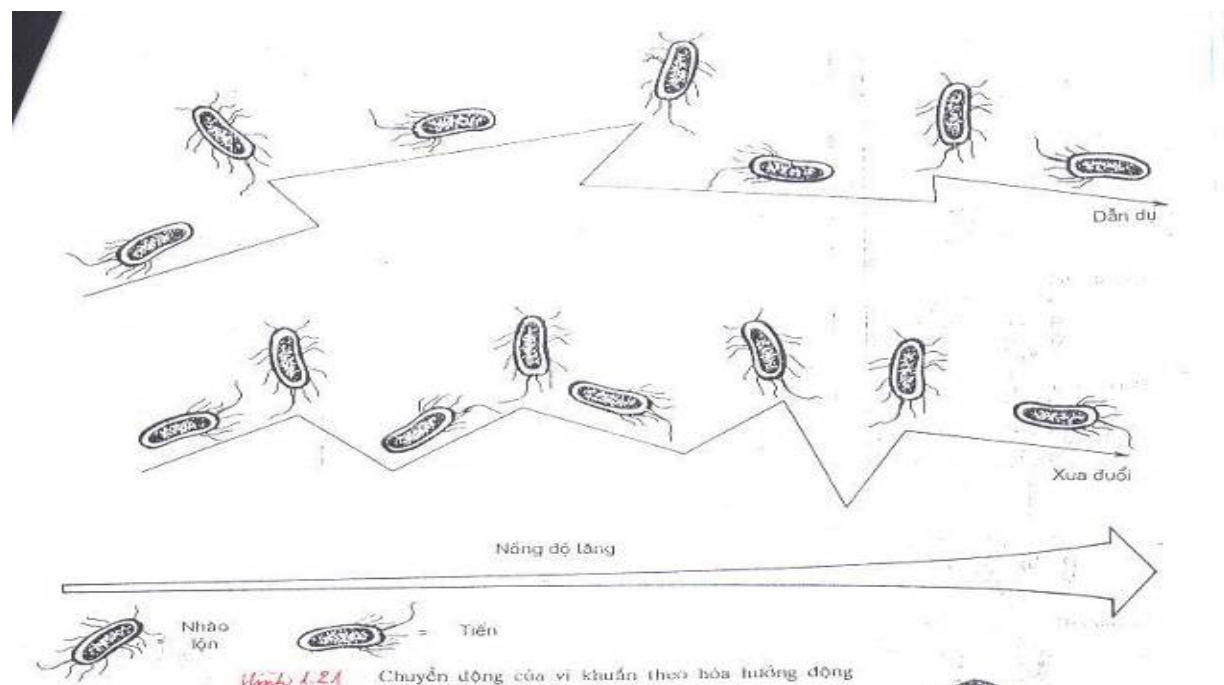


Hình 1.21. So sánh tế bào vi khuẩn G^+ và G^-



Hình 1.22. Chuyển động của vi khuẩn theo hoá hướng động

Hình 1.23. Bào tử vi khuẩn *Bacillus megatherium* 1. Áo bào tử 2. Vỏ bào tử 3. Vỏ bào tử 4. Thành lõi (core wall) 5. AND; 6. Riboxom



Hình 1.21 Chuyển động của vi khuẩn theo hóa hướng động

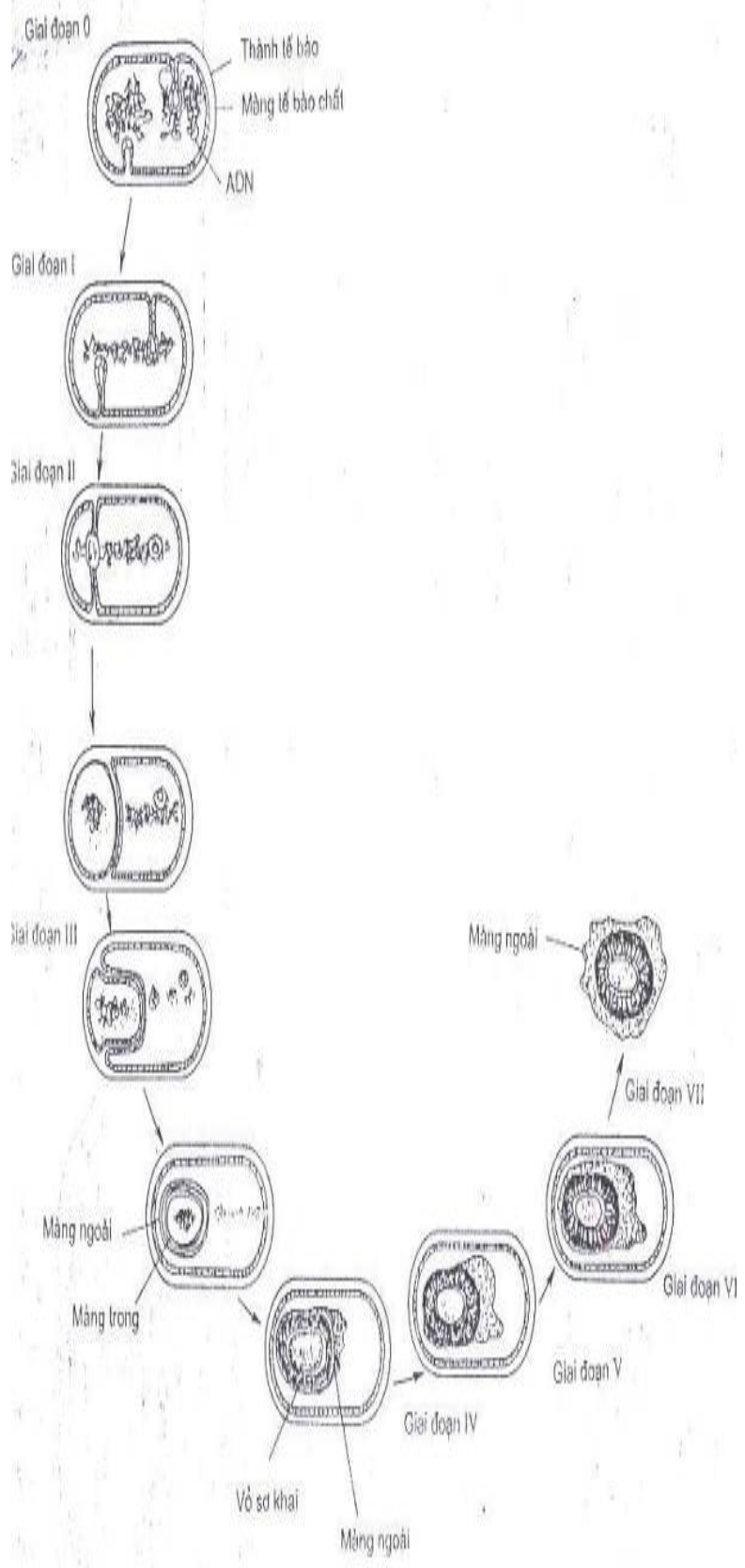


Hình 1.22

Bào tử của vi khuẩn *Bacillus megatherium*

1 - Áo bào tử
2 - Vỏ bào tử

Hình 1.24. Các giai đoạn của quá trình hình thành bào tử



Hình 1.25. Sinh sản của vi khuẩn

Sinh sản của vi khuẩn

Vi khuẩn sinh sản chủ yếu bằng hình thức nhân đôi tế bào. Từ một tế bào mẹ phân cắt thành 2 tế bào con. Tế bào con được hình thành sau một thời gian sinh trưởng nhất định lại tiến hành phân cắt. Bằng hình thức đó, số lượng tế bào tăng lên theo cấp số nhân. Tùy từng loài vi khuẩn, cứ khoảng 10 đến 30 phút lại cho ra một thế hệ.

Về sinh sản hữu tính ở vi khuẩn, người ta chỉ mới phát hiện ra hình thức tiếp hợp giữa hai tế bào, hệ gen của tế bào cho sẽ qua cầu nguyên sinh chất chuyển sang tế bào nhận, thường chỉ chuyển một phần. Tế bào nhận có thêm một phần hệ gen của thể cho khi phân cắt sẽ sinh ra những tế bào mới mang đặc tính lai giữa hai tế bào.

Có quan điểm cho rằng: bào tử cũng là một hình thức sinh sản và đối mới tế bào của vi khuẩn. Vì lúc tế bào bình thường nảy mầm từ bào tử, nó đã được đổi mới không còn như trước nữa.

Ý nghĩa thực tiễn của vi khuẩn

Vi khuẩn chiếm đa số trong các vi sinh vật, có những mẫu đất vi khuẩn chiếm tới 90%, bởi vậy nó đóng vai trò quyết định trong các quá trình chuyển hoá vật chất. Vi khuẩn tham gia vào hầu hết các vòng tuần hoàn vật chất trong đất và trong thiên nhiên. Tuy vậy, rất nhiều vi khuẩn gây bệnh cho người và động vật, thực vật, gây nên những tổn thất nghiêm trọng về sức khỏe con người cũng như sản xuất nông nghiệp. Ngày nay với những thành tựu của khoa học hiện đại, người ta đã tìm ra những biện pháp hạn chế tác hại do vi khuẩn gây ra, ví dụ như việc chế vaccine phòng bệnh, sử dụng chất kháng sinh v.v...

Xạ khuẩn (Actinomycetes)

Xạ khuẩn thuộc nhóm Procaryotes, có cấu tạo nhân đơn giản giống như vi khuẩn. Tuy vậy, đa số tế bào xạ khuẩn lại có cấu tạo dạng sợi, phân nhánh phức tạp và có nhiều màu sắc giống như nấm mốc.

Hình thái và kích thước

Đa số xạ khuẩn có cấu tạo dạng sợi, các sợi kết với nhau tạo thành khuẩn lạc có nhiều màu sắc khác nhau: trắng, vàng, nâu, tím, xám v.v.... Màu sắc của xạ khuẩn là một đặc điểm phân loại quan trọng. Đường kính sợi của xạ khuẩn khoảng từ 0,1 - 0,5 μ m. Có thể phân biệt được hai loại sợi khác nhau.

Sợi khí sinh là hệ sợi mọc trên bề mặt môi trường tạo thành bề mặt của khuẩn lạc xạ khuẩn. Từ đây phát sinh ra bào tử. Sợi cơ chất là sợi cắm sâu vào môi trường làm nhiệm vụ hấp thu chất dinh dưỡng. Sợi cơ chất sinh ra sắc tố thẩm vào môi trường, sắc tố này thường có màu khác với màu của sợi khí sinh. Đây cũng là một đặc điểm phân loại quan trọng.

Một số xạ khuẩn không có sợi khí sinh mà chỉ có sợi cơ chất, loại sợi này làm cho bề mặt xạ khuẩn nhẵn và khó tách ra khi cấy truyền. Loại chỉ có sợi khí sinh thì ngược lại, rất dễ tách toàn bộ khuẩn lạc khỏi môi trường.

Khuẩn lạc xạ khuẩn thường rắn chắc, xù xì, có thể có dạng da, dạng phấn, dạng nhung, dạng vôi phụ thuộc vào kích thước bào tử. Trường hợp không có sợi khí sinh khuẩn lạc có dạng màng dẻo. Kích thước khuẩn lạc thay đổi tùy loài xạ khuẩn và tùy điều kiện nuôi cấy. Khuẩn lạc thường có dạng phóng xạ (vì thế mà gọi là xạ khuẩn), một số có dạng những vòng tròn đồng tâm cách nhau một khoảng nhất định. Nguyên nhân của hiện tượng vòng tròn đồng tâm là do xạ khuẩn sinh ra chất ức chế sinh trưởng, khi sợi mọc qua vùng này chúng sinh trưởng yếu đi, qua được vùng có chất ức chế chúng lại sinh trưởng mạnh thành vòng tiếp theo, vòng này lại sinh ra chất ức chế sinh trưởng sát với nó khiến khuẩn ty lại phát triển yếu đi. Cứ thế tạo thành khuẩn lạc có dạng các vòng tròn đồng tâm.

Cấu tạo tế bào

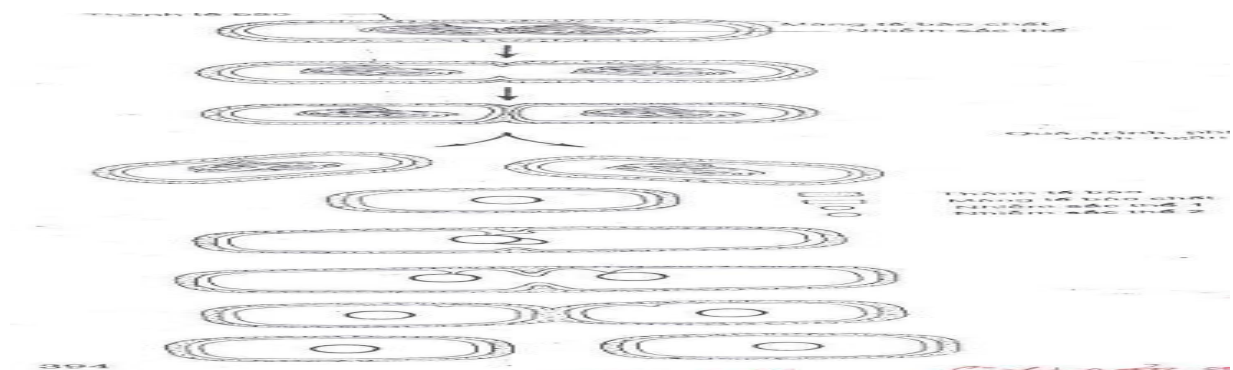
Khuẩn lạc xạ khuẩn tuy có dạng sợi phân nhánh phức tạp đan xen nhau nhưng toàn bộ hệ sợi chỉ là một tế bào có nhiều nhân, không có vách

ngăn ngang. Giống như vi khuẩn, nhân thuộc loại đơn giản, không có màng nhân.

Thành tế bào xạ khuẩn giống với thành tế bào vi khuẩn gram +. Màng tế bào chất dày khoảng 50 nm và có cấu trúc tương tự như màng tế bào chất của vi khuẩn. Nhân không có cấu trúc điển hình, chỉ là những nhiễm sắc thể không có màng. Khi còn non, toàn bộ tế bào chỉ có một nhiễm sắc thể sau đó hình thành nhiều hạt rải rác trong toàn bộ hệ khuẩn ty (gọi là hạt Cromatin).

Sinh sản

Xạ khuẩn sinh sản sinh dưỡng bằng bào tử. Bào tử được hình thành trên các nhánh phân hoá từ khuẩn ty khí sinh gọi là cuống sinh bào tử. Cuống sinh bào tử ở các loài xạ khuẩn có kích thước và hình dạng khác nhau. Có loài dài tới 100 - 200 nm, có loài chỉ khoảng 20 - 30 nm. Có loài cấu trúc theo hình lược sóng, có loài lò xo hay xoắn ốc. Sắp xếp của các cuống sinh bào tử cũng khác nhau. Chúng có thể sắp xếp theo kiểu mọc đơn, mọc đôi, mọc vòng hoặc từng chùm. Đặc điểm hình dạng của cuống sinh bào tử là một tiêu chuẩn phân loại xạ khuẩn.



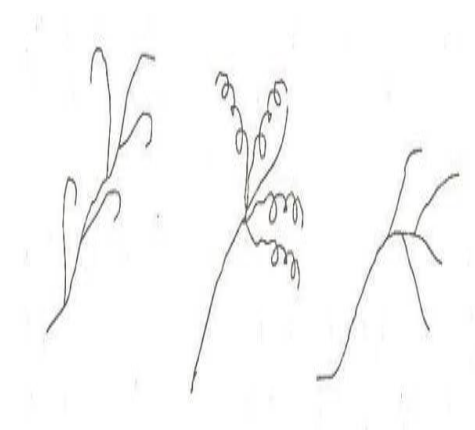
Bào tử được hình thành từ cuống sinh bào tử theo kiểu kết đoạn (fragmentation) hoặc cắt khúc (segmentation).

- Kiểu kết đoạn:

Hạt cromatin trong cuống sinh bào tử được phân chia thành nhiều hạt phân bố đồng đều dọc theo sợi cuống sinh bào tử. Sau đó tế bào chất tập trung bao bọc quang mỗi hạt cromatin gọi là tiền bào tử. Tiền bào tử hình thành màng tạo thành bào tử nằm trong cuống sinh bào tử. Bào tử thường có hình cầu hoặc ôvan, được giải phóng khi màng cuống sinh bào tử bị phân giải hoặc bị tách ra.

- Kiểu cắt khúc:

Hạt cromatin phân chia phân bố đồng đều dọc theo cuống sinh bào tử. Sau đó giữa các hạt hình thành vách ngăn ngang, mỗi phần đều có tế bào chất. Bào tử hình thành theo kiểu này thường có hình viên trụ hoặc hình que.

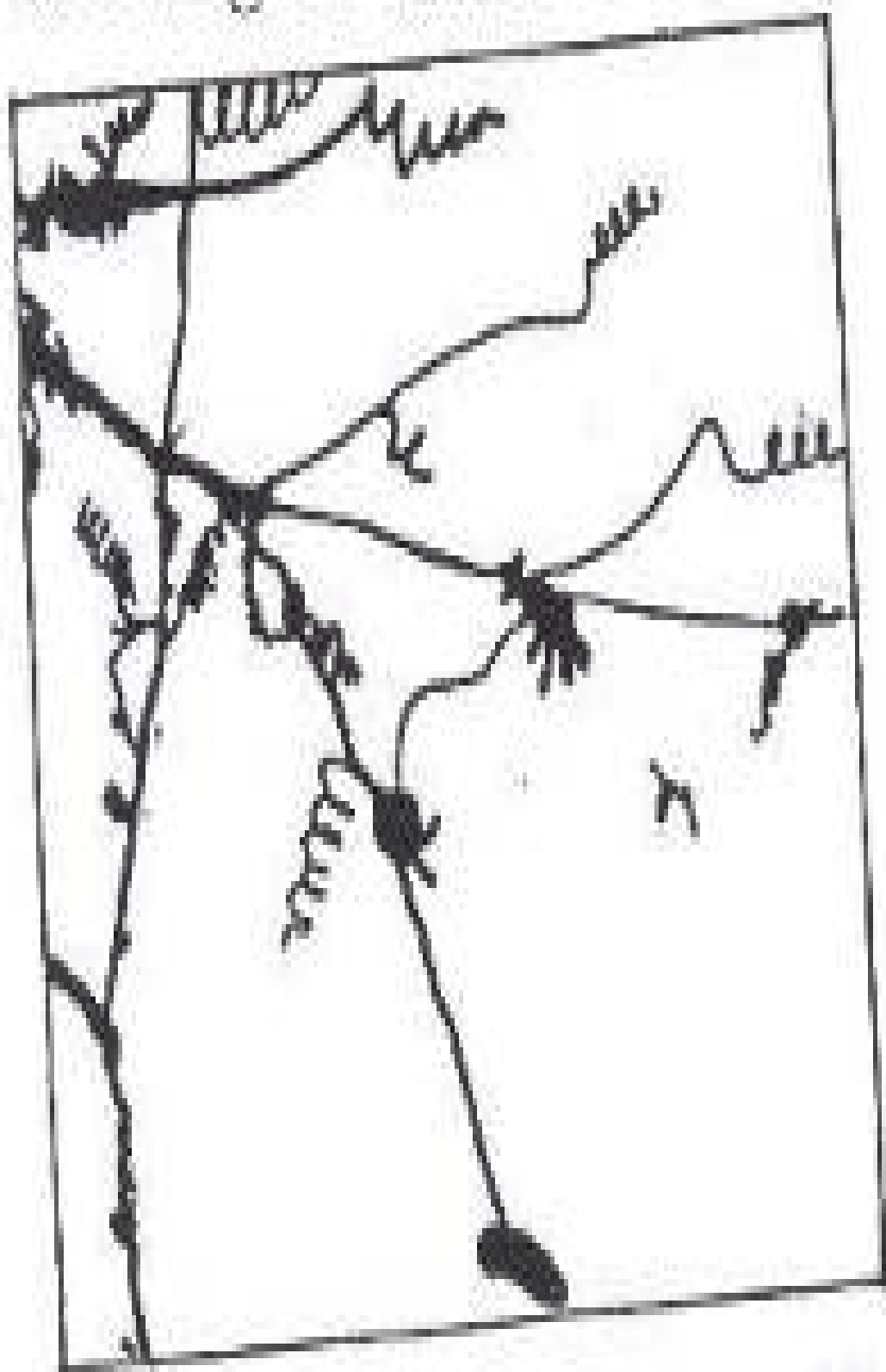


Hình 1.26 hình dạng cuống bào tử xạ khuẩn Strep. Griseus

Ngoài hình thức sinh sản bằng bào tử, xạ khuẩn còn có thể sinh sản bằng khuẩn ty. Các đoạn khuẩn ty gãy ra môi trường phát triển thành hệ khuẩn ty. Thuộc nhóm Procaryotes ngoài xạ khuẩn và vi khuẩn còn có niêm vi khuẩn, xoắn thể, rickettsia và Mycoplasma. Các nhóm này đều có cấu tạo nhân đơn giản. Cấu tạo tế bào và hoạt tính sinh lý có nhiều sai khác. Ví dụ như Mycoplasma có kích thước rất nhỏ bé so với vi khuẩn, không có màng tế bào, vì thế hình dạng luôn biến đổi. Rickettsia cũng có kích thước nhỏ bé, sống ký sinh bắt buộc v.v...

Ý nghĩa thực tiễn của xạ khuẩn

Xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật phân bố rộng rãi trong đất, chúng tham gia vào các quá trình phân giải các hợp chất hữu cơ trong đất như xenluloza, tinh bột v.v.... góp phần khép kín vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên. Đặc tính này còn được ứng dụng trong quá trình chế biến phân huỷ rác v.v... Nhiều xạ khuẩn có khả năng sinh chất kháng sinh. Đặc điểm này được sử dụng trong nghiên cứu sản xuất các chất kháng sinh dùng trong y học, nông nghiệp và bảo quản thực phẩm.



Hình 1.27. Các dạng bào tử ở xạ khuẩn

Hình 1.28 Cấu trúc của khuẩn ti ở xạ khuẩn: tế bào chất pm: màng tế bào chất cw: thành tế bào se: vách ngăn ri: ribosome re: chất dự trữ

[missing_resource: .jpg]

Hình 1.29. Một số dạng bào tử ở xạ khuẩn- Bào tử đơn (monosporous)

Hình 1.30. Sự hình thành bào tử trong bao bào tử (Sporangia) ở xạ khuẩn

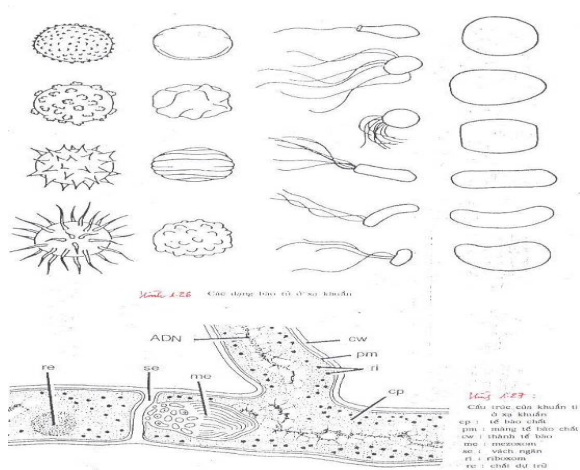
Vi nấm

Vi nấm là nhóm nấm có kích thước hiển vi. Vi nấm khác với vi khuẩn và xạ khuẩn, chúng có cấu tạo nhân điển hình, vì vậy chúng được xếp vào nhóm Eukaryotes. Vi nấm gồm 2 nhóm lớn - Nấm men và nấm sợi, nấm men có cấu trúc đơn bào, nấm sợi có cấu trúc đa bào. Nấm sợi còn gọi là nấm mốc. Vi nấm được xếp loại trong giới nấm (Fungi) bao gồm cả các nấm lớn.

Nấm men (Yeas)

Hình thái và kích thước

Nấm men thường có hình cầu hoặc hình bầu dục, một số loại có hình que và một số hình dạng khác. Kích thước trung bình của nấm men là 3 - 5 x 5 - 10 μ m. Một số loài nấm men sau khi phân cắt bằng phương pháp nảy chồi, tế bào con không rời khỏi tế bào mẹ và lại tiếp tục mọc chồi. Bởi vậy nó có hình thái giống như cây xương rồng khi quan sát dưới kính hiển vi.



Hình 1.31 Nấm *Saccharomyces Cerevisiae*

Cấu tạo tế bào

Khác với vi khuẩn và xạ khuẩn, nấm men có cấu tạo tế bào khá phức tạp, gần giống như tế bào thực vật. Có đầy đủ các cấu tạo thành tế bào, màng tế bào chất, tế bào chất, ty thể, riboxom, nhân, không bào và các hạt dự trữ.

- Thành tế bào

Thành tế bào nấm men được cấu tạo bởi hai lớp phân tử bao gồm 90% là hợp chất glucan và mannan, phần còn lại là protein, lipid và glucosamin. Glucan là hợp chất cao phân tử của D - Glucoza, mannan là hợp chất cao phân tử của D - Manosa. Trên thành tế bào có nhiều lỗ, qua đó các chất dinh dưỡng được hấp thu và các sản phẩm của quá trình trao đổi chất được thải ra.

- Màng nguyên sinh chất

Màng nguyên sinh chất của tế bào nấm men dày khoảng 8 nm có cấu tạo tương tự như màng nguyên sinh chất của vi khuẩn.

Tế bào chất của nấm men cũng tương tự như tế bào chất của vi khuẩn, độ nhớt của tế bào chất cao hơn của nước 800 lần.

Nhân tế bào nấm men là nhân điển hình, có màng nhân, bên trong là chất dịch nhân có chứa hạch nhân. Cũng như nhân tế bào của vi sinh vật bậc cao, nhân tế bào nấm men ngoài AND còn có protein và nhiều loại men. Hạch nhân của tế bào nấm men không phải chỉ gồm một phân tử AND như ở vi khuẩn mà đã có cấu tạo nhiễm sắc thể điển hình và có quá trình phân bào nguyên nhiễm còn gọi là gián phân. Quá trình gián phân gồm 4 giai đoạn như ở vi sinh vật bậc cao. Số lượng nhiễm sắc thể trong tế bào nấm men khác nhau tùy loại nấm men. Ở *Saccharomyces cerevisiae* là nhóm nấm men phân bố rộng rãi nhất, thể đơn bội của nó có $n = 17$ nhiễm sắc thể, thể lưỡng bội có $2n = 34$. Ngoài nhiễm sắc thể ra, trong nhân tế bào *S. cerevisiae* còn có từ 50 đến 100 plasmic có cấu tạo là 1 phân tử AND hình vòng kín có kích thước 2 μ m, có khả năng sao chép độc lập, mang thông tin di truyền.

- Ty thể:

Khác với vi khuẩn, nấm men đã có ty thể giống như ở tế bào bậc cao, đó là cơ quan sinh năng lượng của tế bào. Ty thể nấm men có hình bầu dục, được bao bọc bởi hai lớp màng, màng trong gấp khúc thành nhiều tấm răng lược hoặc nhiều ống nhỏ làm cho diện tích bề mặt của màng trong tăng lên. Cấu trúc của hai lớp màng ty thể giống cấu trúc của màng nguyên sinh chất. Trên bề mặt của màng trong có đính vô số các hạt nhỏ hình cầu. Các hạt này có chức năng sinh năng lượng và giải phóng năng lượng của ty thể. Trong ty thể còn có một phân tử AND có cấu trúc hình vòng, có khả năng tự sao chép. Những đột biến tạo ra tế bào nấm men không có AND ty thể làm cho tế bào nấm men phát triển rất yếu, khuẩn lạc nhỏ bé. Trong ty thể còn có cả các thành phần cần cho quá trình tổng hợp protein như riboxom, các loại ARN và các loại enzym cần thiết cho sự tổng hợp protein. Các thành phần này không giống với các thành phần tương tự của tế bào nấm men nhưng lại rất giống của vi khuẩn. AND của ty thể rất nhỏ nên chỉ có thể mang mật mã tổng hợp cho một số protein của ty thể, số còn lại do tế bào tổng hợp rồi đưa vào ty thể. Người ta đã chứng minh được quá trình tự tổng hợp protein của ty thể. Quá trình này bị kìm hãm bởi cloramfenicol giống như ở vi khuẩn, trong khi đó chất kháng sinh này không kìm hãm được quá trình tổng hợp protein ở tế bào nấm men.

- Riboxom của tế bào nấm men có hai loại : loại 80S gồm 2 tiểu thể 60S và 40S nằm trong tế bào chất, một số khác gắn với màng tế bào chất. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng: các riboxom gắn với màng tế bào chất có hoạt tính tổng hợp protein cao hơn. loại 70S là loại riboxom có trong ti thể.

Ngoài các cơ quan trên, nấm men còn có không bào và các hạt dự trữ như hạt Volutin, hạt này không những mang vai trò chất dự trữ mà còn dùng làm nguồn năng lượng cho nhiều quá trình sinh hoá học của tế bào. Ngoài hạt Volutin trong tế bào còn có các hạt dự trữ khác như glycogen và lipit. Một số nấm men có khả năng hình thành một lượng lớn lipit.

- Bào tử: Nhiều nấm men có khả năng hình thành bào tử, đó là một hình thức sinh sản của nấm men. Có 2 loại bào tử: bào tử bắn và bào tử túi. Bào tử túi là những bào tử được hình thành trong một túi nhỏ còn gọi là nang. Trong nang thường chứa từ 1-8 bào tử, đôi khi đến 12 bào tử. Phương thức hình thành túi phụ thuộc vào hình thức sinh sản của nấm men. Bào tử bắn là những bào tử ấu khi hình thành nhờ năng lượng của tế bào bắn mạnh về phía đối diện. Đó là một hình thức phát tán bào tử. Có thể quan sát bào tử bắn bằng cách nuôi cấy nấm men trên đĩa petri, vài ngày sau thấy xuất hiện trên nắp hộp phía đối diện thành một lớp mờ. Dem nắp hộp soi dưới kính hiển vi sẽ thấy rõ các bào tử.

Sinh sản

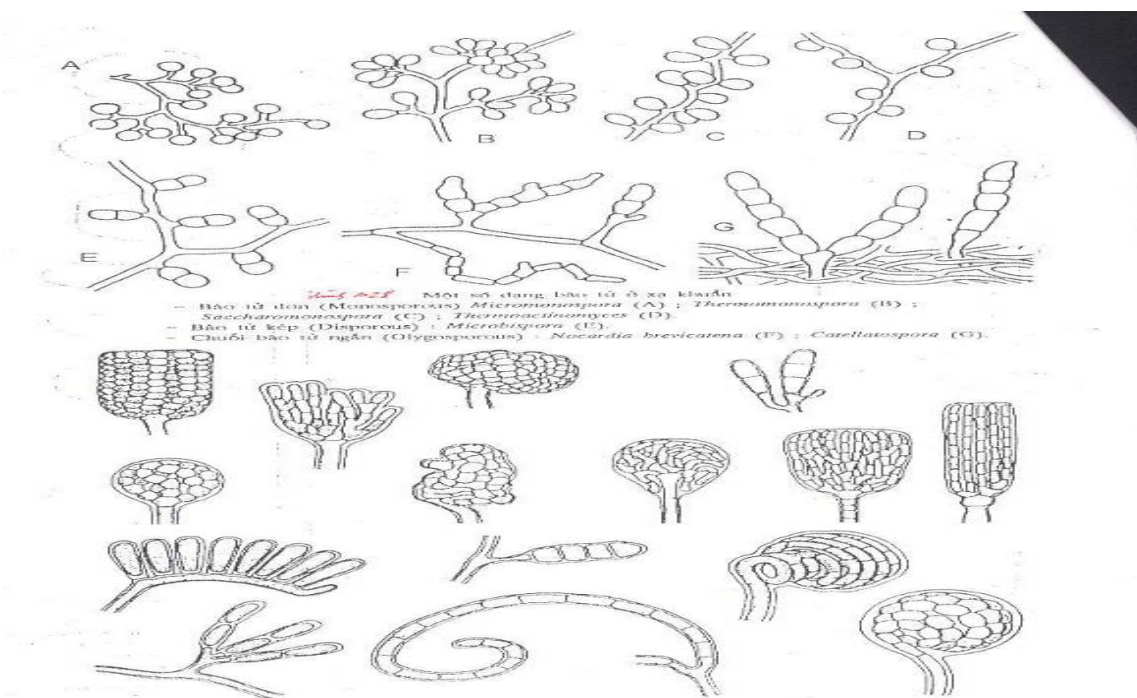
Ở 3 nấm men có 3 hình thức sinh sản

- Sinh sản sinh dưỡng : là hình thức sinh sản đơn giản nhất của nấm men. Có 2 hình thức sinh sản sinh dưỡng: nảy chồi và hình thức ngang phân đôi tế bào như vi khuẩn. Ở hình thức nảy chồi, từ một cực của tế bào mẹ nảy chồi thành một tế bào con, sau đó hình thành vách ngăn ngang giữa hai tế bào. Tế bào còn có thể tách khỏi tế bào mẹ hoặc có thể dính với tế bào mẹ và lại tiếp tục nảy chồi làm cho nấm men giống như hình dạng cây xương rồng tai nhỏ.

- Sinh sản đơn tính: bằng hai hình thức bào tử túi và bào tử bắn như đã nói ở phần bào tử.

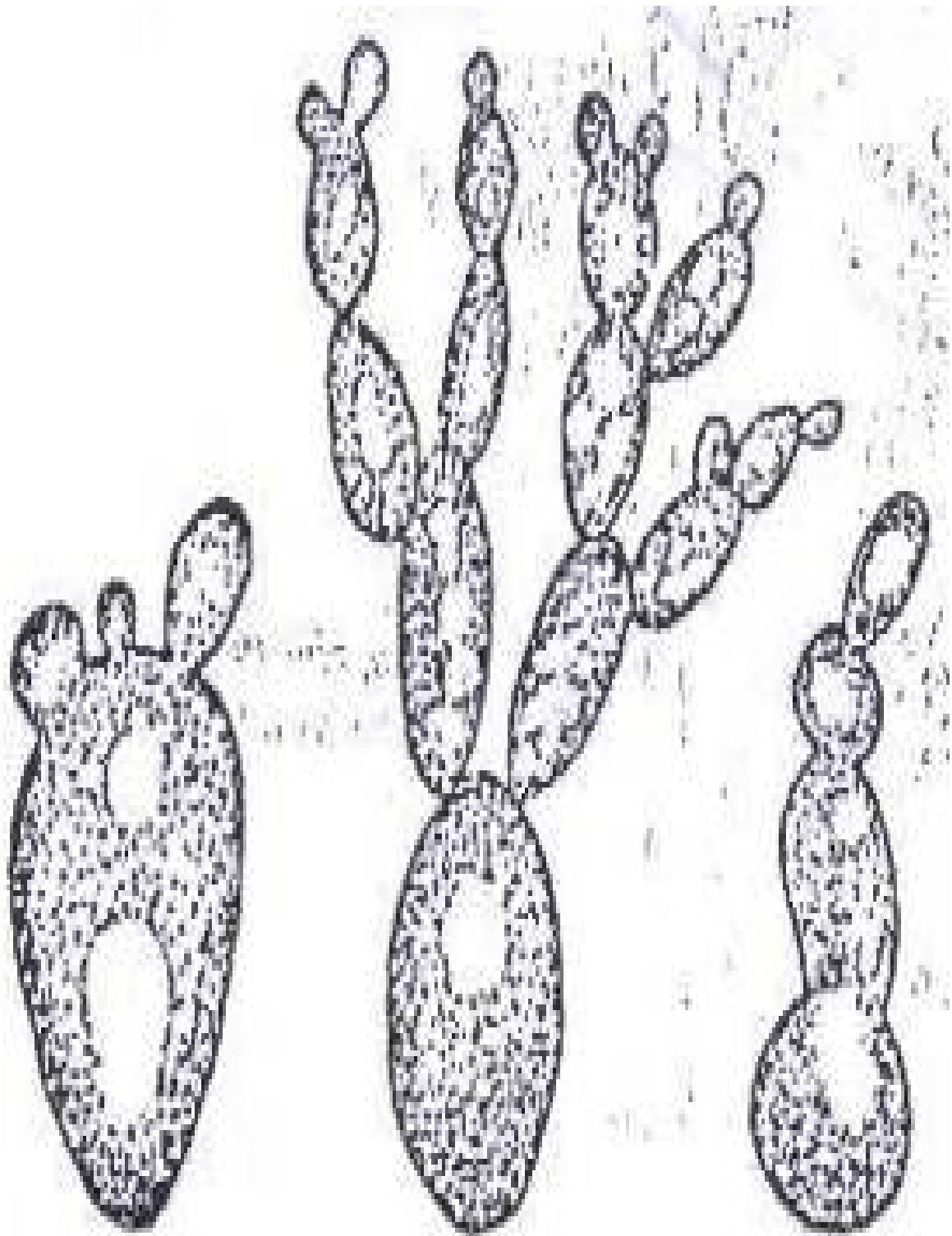
- Sinh sản hữu tính: do hai tế bào nấm men kết hợp với nhau hình thành hợp tử. Hợp tử phân chia thành các bào tử nằm trong nang, nang chín bào tử được phát tán ra ngoài. Nếu 2 tế bào nấm men có hình thái kích thước giống nhau tiếp hợp với nhau thì được gọi là tiếp hợp đẳng giao. Nếu 2 tế bào nấm men khác nhau thì gọi là tiếp hợp dị giao.

Trong chu trình sống của nhiều loài nấm men, có sự kết hợp các hình thức sinh sản khác nhau. Sau đây là quá trình sinh sản của *S. cerevisiae* - một loài nấm men phân bố rộng rãi trong thiên nhiên. Chu trình sống của nấm men này có 2 giai đoạn đơn bội và lưỡng bội. Đầu tiên tế bào sinh dưỡng đơn bội (n) sinh sôi nảy nở theo lối nảy chồi. Sau đó 2 tế bào đơn bội kết hợp với nhau, có sự trao đổi của tế bào chất và nhân hình thành tế bào lưỡng bội ($2n$). Tế bào lưỡng bội lại nảy chồi (sinh sản sinh dưỡng) thành nhiều tế bào lưỡng bội khác, cuối cùng hình thành hợp tử. Nhân của hợp tử phân chia giảm nhiễm thành 4 nhân đơn bội. Mỗi nhân đơn bội được bao bọc nguyên sinh chất, hình thành màng, tạo thành 4 bào tử nằm trong một túi gọi là bào tử túi. Khi túi vỡ, bào tử ra ngoài phát triển thành tế bào dinh dưỡng và lại phân chia theo lối này rồi tiếp tục chu trình sống.



Ngoài hình thức sinh sản như ở *S. cerevisiae*, một số loài nấm men khác có những hình thức sinh sản về cơ bản cũng giống như trên nhưng có một số sai khác. Ví dụ như là *Schizosaccharomyces octosporus* hợp tử lưỡng bội phân chia 3 lần, lần đầu giảm nhiễm sinh ra 8 bào tử nằm trong nang.

Hình 1.32. Chu trình sinh sản của nấm men



Hình 1.33. Các kiểu nảy chồi và các hình dạng của tế bào, bào tử ở nấm men

A. Nảy chồi nhiều cực; B. Nảy chồi đơn cực; C. Nảy chồi lưỡng cực; D. Phân cắt

E. Khuẩn ti già; F. Khuẩn ti; G. Bào tử đốt; H. Nội bào tử; I. Bào tử bắn;

J. Bào tử trần

Ý nghĩa thực tiễn của nấm men

Nấm men là nhóm vi sinh vật phân bố rộng rãi trong thiên nhiên, nó tham gia vào các quá trình chuyển hoá vật chất, phân huỷ chất hữu cơ trong đất. Hoạt tính sinh lý của nhiều loài nấm men được ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm, nông nghiệp và các ngành khác. Đặc biệt trong quá trình sản xuất các loại rượu, cồn, nước giải khát lên men, làm thức ăn gia súc ... Ngoài hoạt tính sinh lý, bản thân tế bào nấm men có rất nhiều loại vitamin và các axit amin, đặc biệt là axit amin không thay thế. Đặc tính này được dùng để chế tạo thức ăn gia súc từ nấm men, thậm chí thức ăn dùng cho người cũng có thể chế tạo từ nấm men.

Nấm mốc (nấm sợi)

Nấm mốc cũng thuộc nhóm vi nấm, có kích thước hiển vi. Khác với nấm men, có không phải là những tế bào riêng biệt mà là một hệ sợi phức tạp, đa bào có màu sắc phong phú.

Hình thái và kích thước

Nấm mốc có cấu tạo hình sợi phân nhánh, tạo thành một hệ sợi chằng chịt phát triển rất nhanh gọi là khuẩn ti thể hay hệ sợi nấm. Chiều ngang của khuẩn ti thay đổi từ 3 - 10 μ m. Nấm mốc cũng có 2 loại khuẩn ti: khuẩn ti khí sinh mọc trên bề mặt môi trường, từ đây sinh ra những cơ quan sinh sản. Khuẩn ti cơ chế mọc sâu vào môi trường.

Khuẩn lạc của nấm mốc cũng có nhiều màu sắc như khuẩn lạc xạ khuẩn. Khuẩn lạc nấm mốc khác với xạ khuẩn ở chỗ nó phát triển nhanh hơn, thường to hơn xạ khuẩn ở chỗ nó phát triển nhanh hơn, thường to hơn khuẩn lạc xạ khuẩn nhiều lần. Dạng xốp hơn do kích

thích khuẩn ti to hơn. Thường thì mỗi khuẩn lạc sau 3 ngày phát triển có kích thước 5 - 10 mm, trong khi đó khuẩn lạc xạ khuẩn chỉ khoảng 0,5 - 2 mm.

Cấu tạo tế bào

Cũng như nấm men, nấm mốc có cấu tạo tế bào điển hình như ở sinh vật bậc cao. Thành phần hoá học và chức năng của các cấu trúc này cũng tương tự như ở nấm men. Điều sai khác cơ bản giữa nấm mốc và nấm men là ở tổ chức tế bào.

Nấm men chỉ là những tế bào riêng rẽ hoặc xếp với nhau theo kiểu cây xương rồng như đã nói ở phần trên. Nấm mốc có tổ chức tế bào phức tạp hơn, trừ một số nấm mốc bậc thấp có cấu tạo đơn bào phân nhánh. Ở những nấm mốc bậc thấp này, cơ thể là một hệ sợi nhiều nhân không có vách ngăn.

Đa số nấm mốc có cấu tạo đa bào, tạo thành những tổ chức khác nhau như sợi khí sinh, sợi cơ chất. Sợi cơ chất của nấm mốc không đơn giản như ở xạ khuẩn mà phức tạp hơn. Có những loài có sợi cơ chất giống như rễ chùm ở thực vật gọi là rễ giả, ví dụ như ở *Aspergillus niger*. Ở những loài nấm mốc ký sinh trên thực vật, sợi cơ chất tạo thành những cấu trúc đặc biệt gọi là vòi hút.

Ở một số loài nấm mốc, các sợi nấm nối với nhau thông qua các cầu nối, các cầu nối hình thành giữa các sợi nằm gần nhau gọi là sự hợp nối do có hiện tượng 2 khối nguyên sinh chất trộn lẫn với nhau. Đó có thể là một hình thức lai dinh dưỡng.

Một số loài nấm mốc có cấu tạo gần giống mô thực vật gọi là mô giả. Đó là các tổ chức sợi xộp gồm các sợi nấm xếp song song với nhau tạo thành một tổ chức sợi xộp. Ngoài tổ chức sợi xộp còn có tổ chức màng mỏng giả gần giống như màng mỏng ở thực vật bậc cao. Chúng gồm những tế bào có kích thước xấp xỉ nhau hình bầu dục, xếp lại với nhau. Hai tổ chức trên có ở thể đệm và hạch nấm. Thể đệm cấu tạo bởi nhiều khuẩn ti kết lại với nhau, từ đó sinh ra các cơ quan sinh sản của nấm mốc. Hạch nấm thường có hình tròn hoặc hình bầu dục không đều, kích

thước tùy theo loài, từ dưới 1 mm đến vài cm. Đặc biệt có loài có kích thước hạch nấm tới vài chục cm. Hạch nấm là một tổ chức giúp cho nấm sống qua những điều kiện ngoại cảnh bất lợi. Sợi nấm tồn tại trong hạch không phát triển. Khi gặp điều kiện thuận lợi hạch sẽ nảy mầm và phát triển bình thường.

Sinh sản

Nấm mốc có 3 hình thức sinh sản chính

a. Sinh sản dinh dưỡng

- Sinh sản dinh dưỡng bằng khuẩn ti: là hình thức từ một khuẩn ti gây ra những đoạn nhỏ, những đoạn nhỏ này phát triển thành một hệ khuẩn ti.
- Sinh sản dinh dưỡng bằng hạch nấm: như đã nói ở phần trên.
- Sinh sản dinh dưỡng bằng bào tử dày: trên phần giữa của khuẩn ti hoặc phần đầu khuẩn ti hình thành tế bào có màng dày bao bọc, bên trong chứa nhiều chất dự trữ. Gặp điều kiện thuận lợi bào tử dày sẽ nảy mầm thành một hệ sợi nấm. Bào tử dày thường là đơn bào, đôi khi là 2 hoặc nhiều tế bào.

b. Sinh sản vô tính

Sinh sản vô tính ở nấm mốc có hai hình thức:

- Bào tử kín: là bào tử hình thành trong một nang kín. Từ một khuẩn ti mọc lên cuống nang, cuống nang thường có đường kính lớn hơn đường kính khuẩn ti. Cuống nang có loại phân nhánh và có loại không phân nhánh. Trên cuống nang hình thành nang bào tử. Cuống nang có phần ăn sâu vào trong nang gọi là nang trụ. Nang trụ có hình dạng khác nhau tùy loài. Ở một số loài, bào tử nằm trong nang có tiên mao, khi nang vỡ bào tử có khả năng di động trong nước gọi là động bào tử (Zoospore).

Sự khác nhau giữa bào tử dày ở sinh sản dinh dưỡng và bào tử kín ở sinh sản vô tính: bào tử dày chính là một hoặc một vài tế bào trong một sợi

nấm hình thành màng đầy bọc lại. Bào tử kín phức tạp hơn, có cơ quan mang bào tử là nang, có nang trụ, cuống nang ...

- Bào tử đính: là hình thức bào tử được hình thành bên ngoài cơ quan sinh bào tử chứ không nằm trong nang kín. Hình thức này có nhiều loại khác nhau.

Có loại bào tử nằm hoàn toàn bên ngoài cơ quan sinh bào tử. Từ sợi nấm mọc lên cuống sinh bào tử, cuống sinh bào tử có thể phân nhánh hoặc không. Từ đỉnh của cuống sinh bào tử bằng cách phân cắt cùng một lúc từ một sợi thành nhiều bào tử. Có loại mọc chồi thành bào tử thứ nhất rồi bào tử thứ nhất lại mọc chồi thành bào tử thứ hai, cứ như thế tạo thành chuỗi, trong chuỗi kiểu này bào tử ở cuối chuỗi non nhất, bào tử ở sát cuống sinh bào tử già nhất, gọi là chuỗi gốc già. Có loại các bào tử được liên tiếp mọc ra từ đỉnh cuống sinh bào tử đẩy dần thành một chuỗi trong đó bào tử ở cuối chuỗi được sinh ra đầu tiên gọi là chuỗi gốc non.

Ở một số loài bào tử nằm trong thể bình, phương thức sinh bào tử cũng tương tự như ở cơ chế trên (phân cắt cùng một lúc, chuỗi gốc nhà, chuỗi gốc non). Đặc điểm khác cơ bản là cuống sinh và bào tử nằm trong một thể hình bình, các bào tử sinh ra được đẩy dần ra khỏi miệng bình. Khác với bào tử kín, nang phải vỡ ra bào tử mới ra ngoài được.

Ngoài các hình thức trên còn một số hình thức khác nữa. Trên cùng một loài nấm mốc có thể có nhiều hình thức sinh sản khác nhau. Ví dụ như *Fusarium* có bào tử dày và bào tử đính. Cách phát sinh bào tử khác nhau cũng có thể có cùng ở một loại nấm.

c. Sinh sản hữu tính

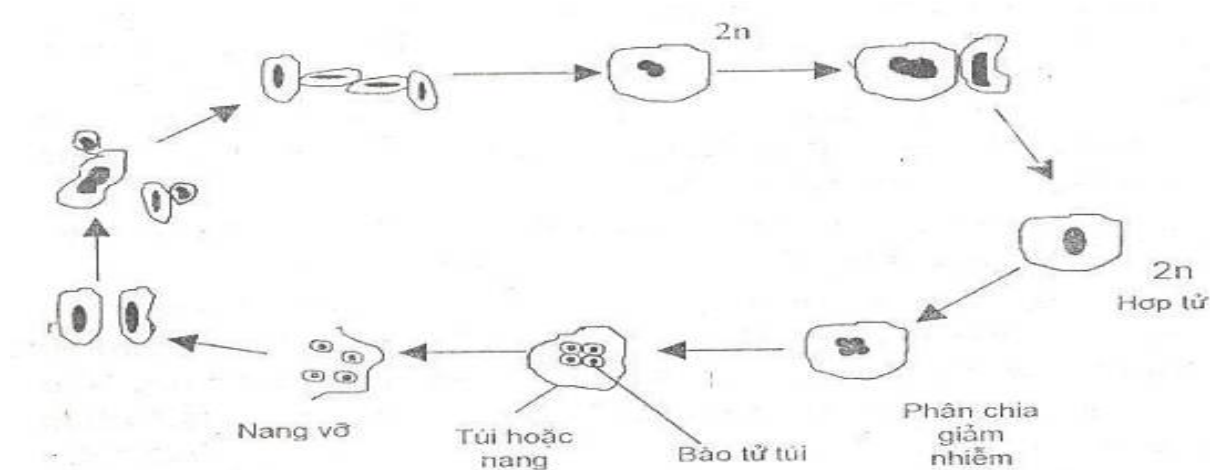
Nấm mốc có 3 hình thức sinh sản hữu tính - đẳng giao, dị giao và tiếp hợp.

- Đẳng giao: Từ sợi khuẩn ti sinh ra các túi giao tử trong có chứa giao tử.

Các giao tử sau khi ra khỏi túi kết hợp với nhau thành hợp tử. Hợp tử phân chia giảm nhiễm thành các bào tử. Mỗi bào tử khi được giải phóng

ra từ hợp tử có thể phát sinh thành sợi nấm. Các giao tử và túi giao tử hoàn toàn giống nhau giữa cơ thể “đực” và cơ thể “cái”.

- Dị giao: là trường hợp các giao tử và túi giao tử ở cơ thể “đực” và “cái” khác nhau. Ở lớp nấm noãn (Oomycetes) cơ quan sinh sản cái gọi là noãn khí ở trong chứa noãn cầu. Cơ quan sinh sản đực gọi là hùng khí có hình ống cong. Có thể có nhiều hùng khí mọc hướng về phía noãn khí, trong hùng khí chứa các tinh trùng. Khi hùng khí mọc vươn tới noãn khí, từ hùng khí tạo thành các ống xuyên qua đó tinh trùng vào thụ tinh noãn cầu tạo thành noãn bào tử. Noãn bào tử được bao bọc bởi một màng dày, sau một thời gian phân chia giảm nhiễm và phát triển thành sợi nấm mốc.



Hình 1.34. Sinh sản hữu tính: Dị giao

- Tiếp hợp: Hình thức sinh sản thường có ở nấm tiếp hợp. Từ 2 khuẩn ti khác nhau gọi là sợi âm và sợi dương mọc ra 2 mẫu lõi gọi là nguyên phôi nang. Các nguyên phôi nang mọc hướng vào nhau dần dần hình thành màng ngăn với khuẩn ti sinh ra nó tạo thành tế bào đa nhân. Hai tế bào đa nhân tiếp hợp với nhau tạo thành hợp tử đa nhân gọi là bào tử tiếp hợp có màng dày. Hợp tử sau một thời gian nảy mầm mọc thành một ống mầm. Đầu ống mầm sau phát triển thành một nang vô tính chứa những bào tử. Ống mầm trở thành cuống nang giống như trường hợp

hình thành bào tử kín. Sau một thời gian nang vỡ giải phóng bào tử ra ngoài. Mỗi bào tử phát triển thành một sợi nấm.

Ngoài các hình thức sinh sản điển hình trên, ở nấm mốc còn có hình thức sinh sản phần nào phức tạp hơn, gần giống với thực vật. Đó là ở một số loài thuộc lớp nấm đảm (Basidiomycetes).

Ý nghĩa thực tiễn của nấm mốc

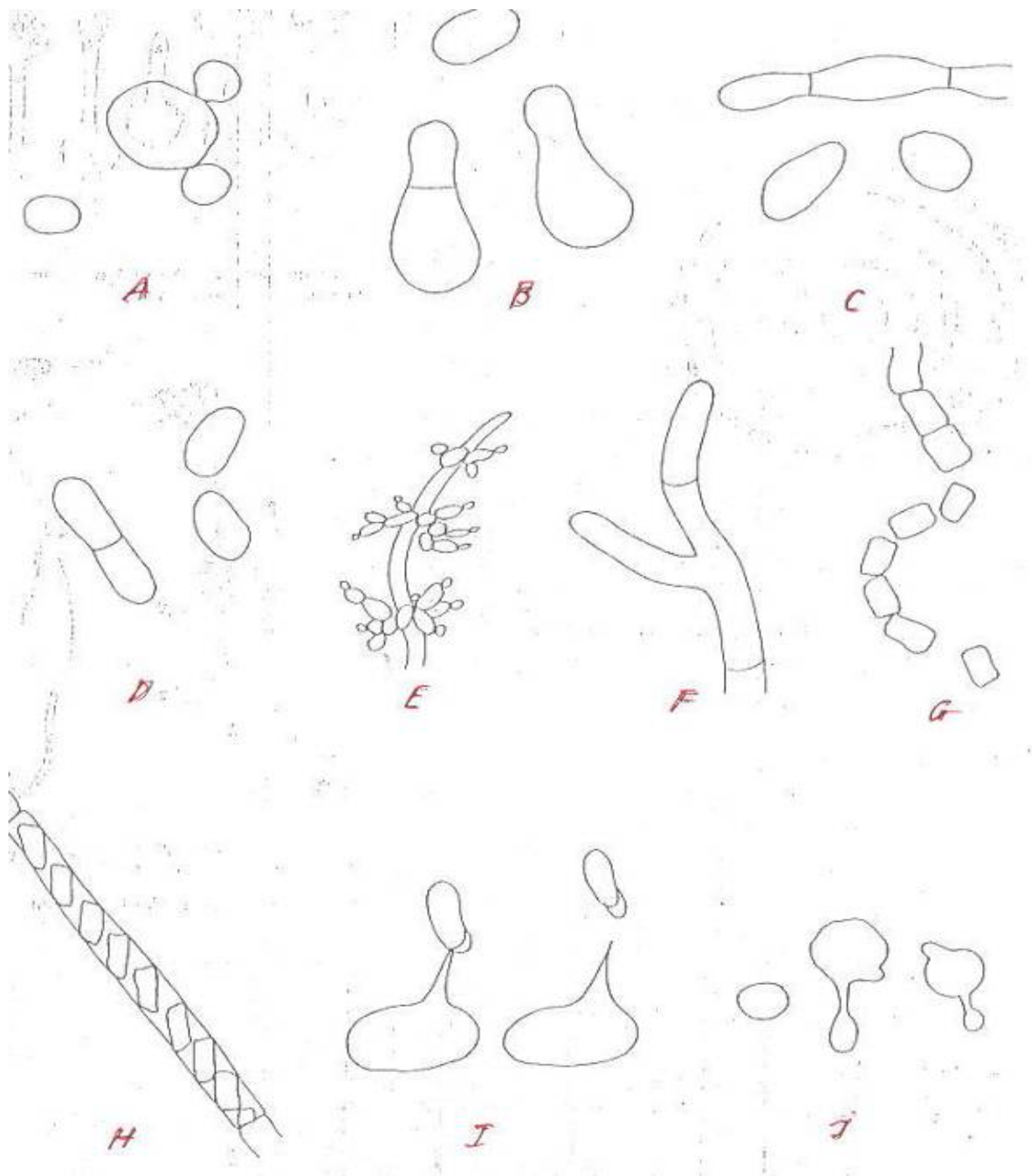
Nấm mốc (hay nấm sợi) là một nhóm vi sinh vật phân bố rộng rãi trong thiên nhiên. Chúng tham gia tích cực vào các quá trình chuyển hoá vật chất, khép kín các vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên. Khả năng chuyển hoá vật chất của chúng được ứng dụng trong nhiều ngành, đặc biệt là chế biến thực phẩm (làm rượu, làm tương, nước chấm v.v...). Mặt khác, có nhiều loại nấm mốc mọc trên các nguyên, vật liệu, đồ dùng, thực phẩm ... phá hỏng hoặc làm giảm chất lượng của chúng. Một số loài còn gây bệnh cho người, động vật thực vật (bệnh lang ben, vẩy nến ở người, nấm rỉ sắt ở thực vật v.v...).

Ngoài các nhóm vi sinh vật chính đã mô tả ở trên, thuộc về các vi sinh vật có kích thước hiển vi có thể xếp vào đối tượng của vi sinh vật học còn có các nhóm tạo đơn bào gọi là vi tảo, các nhóm nguyên sinh động vật như trùng roi, amip v.v...

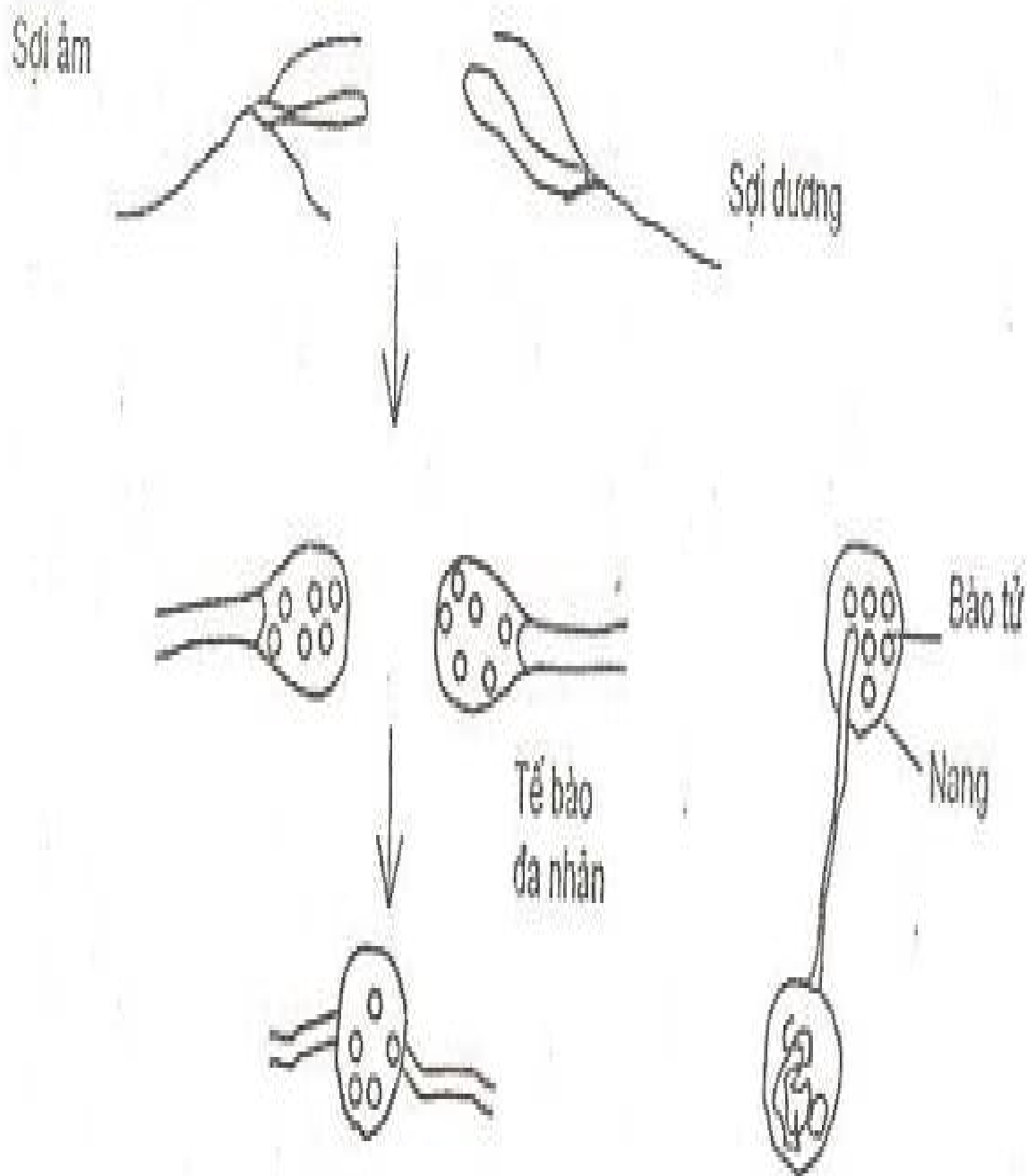
Tất cả những sinh vật nhỏ bé nói trên tạo thành thế giới vi sinh vật vô cùng phong phú, chúng phân bố ở khắp mọi nơi trên hành tinh chúng ta. Chúng tham gia vào các quá trình chuyển hoá vật chất, khép kín các vòng tuần hoàn vật chất trong thiên nhiên, làm cho sự cân bằng vật chất được ổn định và từ đó bảo vệ sự cân bằng sinh thái. Người ta có thể sử dụng nhiều nhóm vi sinh vật vào mục đích bảo vệ môi trường. Ví dụ như nhóm vi sinh vật phân huỷ chất hữu cơ trong rác thải, nhóm vi sinh vật phân huỷ các chất độc hại thành chất không độc. Trong công nghệ xử lý chất thải bằng phương pháp sinh học có sử dụng rất nhiều nhóm vi sinh vật khác nhau. Vi sinh vật còn được ứng dụng trong nhiều ngành sản xuất như chế tạo phân bón sinh học, thuốc bảo vệ thực vật sinh học ... nhằm mục đích thay thế các chất hoá học độc hại với môi trường. Sự

phân bố rộng rãi của vi sinh vật trong các môi trường tự nhiên đóng vai trò quyết định vào khả năng tự làm sạch môi trường đó, cùng với những yếu tố lý học, hoá học và sinh học khác. Vi sinh vật đóng vai trò quan trọng trong việc làm nên khả năng chịu tải của môi trường, đó chính là khả năng tự làm sạch môi trường, giữ cho môi trường tự nhiên không bị ô nhiễm.

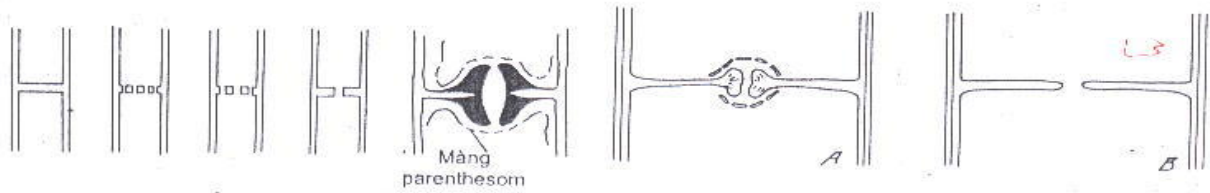
Tuy nhiên, bên cạnh những nhóm vi sinh vật có khả năng làm sạch môi trường, lại có những nhóm gây ô nhiễm môi trường. Đó chính là nhóm các vi sinh vật gây các bệnh vô cùng nguy hiểm cho người, động vật và thực vật.



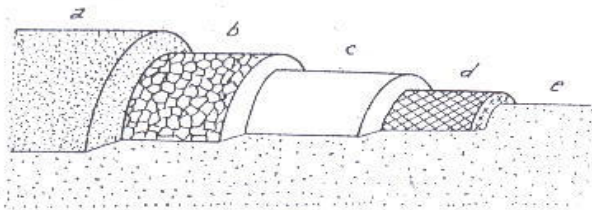
Hình 1.35. Sự hình thành động bào tử và các kiểu động bào tử



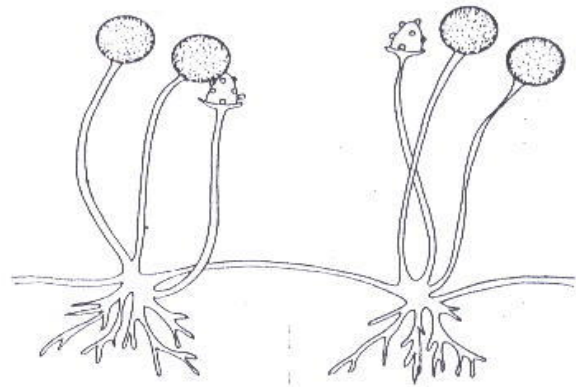
Hình 1.36. Các loại bào tử túi



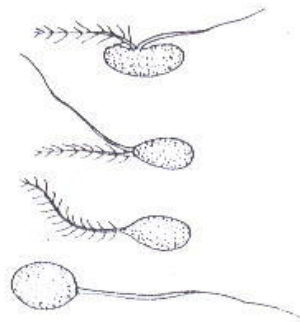
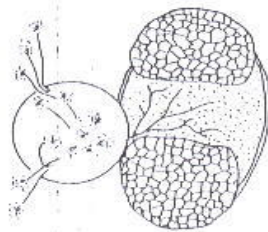
Các dạng vách ngăn ở vi nấm

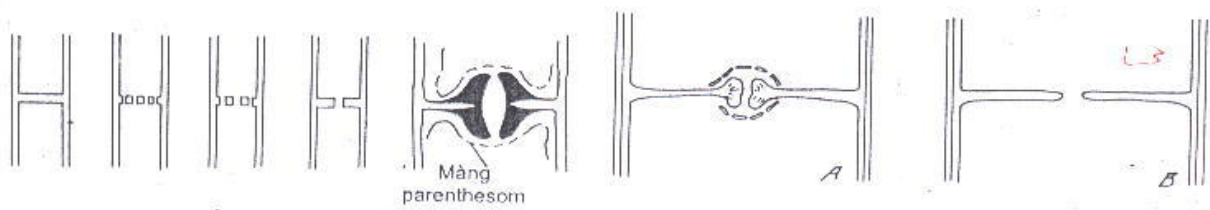


Cấu trúc của thành tế bào ở vi nấm
a - Tầng glucan vô định hình
b - Mạng gluco-protein
c - Tầng protein
d - Sợi nhỏ kitin
e - Màng tế bào chất

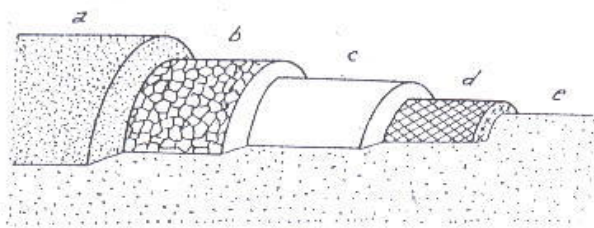


Màng bào tử túi và bào tử túi ở nấm *Rhizopus*

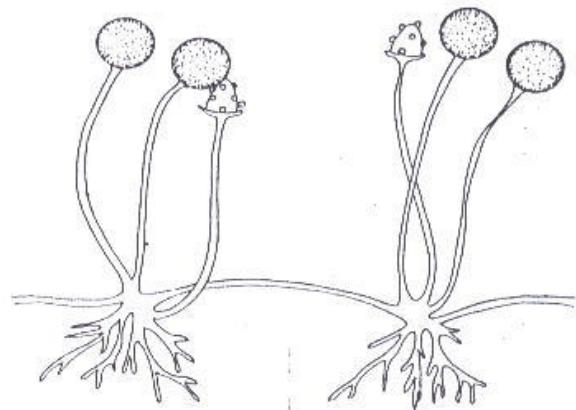




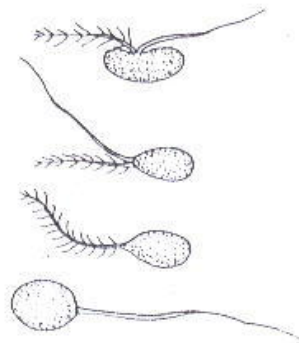
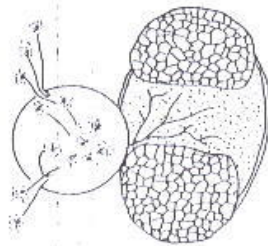
Các dạng vách ngăn ở vi nấm



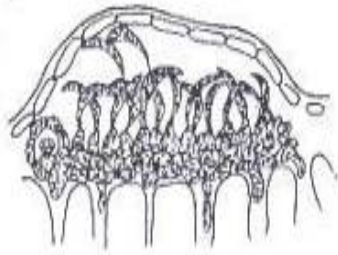
Cấu trúc của thành tế bào ở vi nấm
a - Tầng glucan vô định hình
b - Mạng gluco-protein
c - Tầng protein
d - Sợi nhỏ kitin
e - Mạng tế bào chất



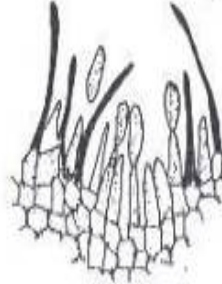
Màng bào tử túi và bào tử túi ở nấm *Rhizopus*



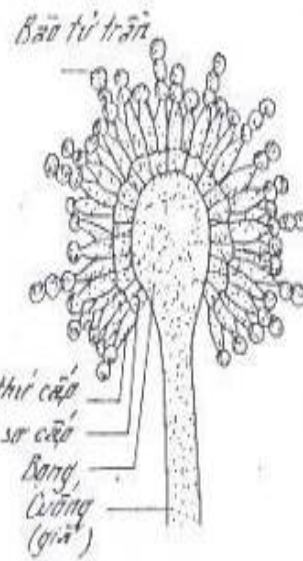
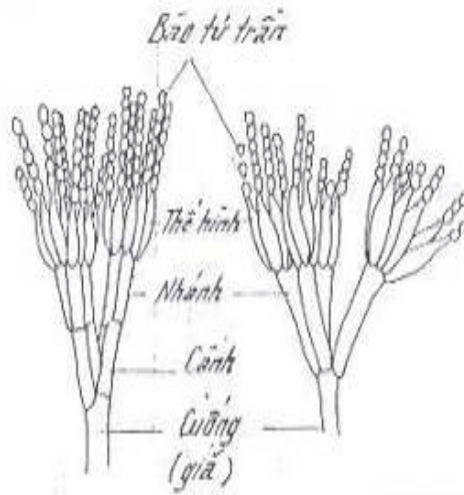
Hình 1.37. Các loại bào tử trần



Dĩa giá



Cụm giá



Hình 1.38. Quá trình hình thành bào tử túi (từ A đến J)

Sinh lý đại cương vi sinh vật
Phần này trình bày về dinh dưỡng của vi sinh vật

DINH DƯỠNG CỦA VI SINH VẬT

Thành phần tế bào của vi sinh vật

Các chất dinh dưỡng đối với vi sinh vật là bất kỳ chất nào được vi sinh vật hấp thụ từ môi trường xung quanh và được chúng sử dụng làm nguyên liệu để cung cấp cho các quá trình sinh tổng hợp tạo ra các thành phần của tế bào hoặc để cung cấp cho các quá trình trao đổi năng lượng.

Quá trình hấp thụ các chất dinh dưỡng để thỏa mãn mọi nhu cầu sinh trưởng và phát triển được gọi là quá trình dinh dưỡng.

Hiểu biết về quá trình dinh dưỡng là cơ sở tất yếu để có thể nghiên cứu, ứng dụng hoặc ức chế vi sinh vật.

Không phải mọi thành phần của môi trường nuôi cấy vi sinh vật đều được coi là chất dinh dưỡng. Một số chất rất cần thiết cho vi sinh vật nhưng chỉ làm nhiệm vụ bảo đảm các điều kiện thích hợp về thế oxy hoá - khử, về pH, về áp suất thẩm thấu, về cân bằng lớn ... Chất dinh dưỡng phải là những hợp chất có tham gia vào các quá trình trao đổi chất nội bào.

Thành phần hoá học của tế bào vi sinh vật quyết định nhu cầu dinh dưỡng của chúng. Thành phần hoá học cấu tạo bởi các nguyên tố C, H, O, N, các nguyên tố khoáng đa lượng và các nguyên tố khoáng vi lượng. Chỉ riêng các nguyên tố C, H, O, N, P, S, K. Na đã chiếm đến 98% khối lượng khô của tế bào vi khuẩn E.Coli.

Bảng 2.1. Thành phần các nguyên tố chủ yếu của tế bào vi khuẩn E.Coli (S.E.Luria)

Nguyên tố	% Chất khô		Nguyên tố	% Chất khô
C	50		Na	1,0
O	20		Ca	0,5
N	14		Mg	0,5
H	8		Cl	0,2
P	3		Fe	
S	1		Các nguyên	0,3
K	1		tố khác	

Lượng chứa các nguyên tố ở các vi sinh vật khác nhau là không giống nhau. Ở các điều kiện nuôi cấy khác nhau, các giai đoạn khác nhau lượng chứa các nguyên tố trong cùng một loài vi sinh vật cũng không giống nhau. Trong tế bào vi sinh vật các hợp chất được phân thành 2 nhóm lớn: (1). Nước và các muối khoáng; (2). Các chất hữu cơ.

Bảng 2.2. Các nhóm hợp chất chủ yếu của tế bào vi khuẩn E. Coli

Loại hợp chất	Nước	Protein	ADN	ARN	Hidrat C	Lipit	Chất hữu cơ phân tử nhỏ	Các phân tử vô cơ
Lượng chứa (%)	70	15	1	6	3	2	2	1

Nước và muối khoáng

Nước chiếm 70 - 90% khối lượng cơ thể sinh vật. Tất cả các phản ứng xảy ra trong tế bào vi sinh vật đều đòi hỏi có sự tồn tại của nước. Ở vi khuẩn lượng chứa nước thường là 70 - 85%, ở nấm sợi thường là 85 - 90%.

Từ cổ xưa người ta đã biết sử dụng phương pháp sấy khô thực phẩm để đình chỉ sự phát triển của vi sinh vật. Việc sử dụng muối hoặc đường để bảo quản thực phẩm chẳng qua cũng chỉ nhằm tạo ra một sự khô cạn sinh lý không thích hợp cho sự phát triển của vi sinh vật.

Yêu cầu của vi sinh vật đối với nước được biểu thị một cách định lượng bằng độ hoạt động của nước (water activity, a_w) trong môi trường. Độ hoạt động của nước còn được gọi là thế năng của nước (water potential, p_w):

$$a_w = \frac{p}{p_0}$$

Ở đây p là áp lực hơi của dung dịch còn p_0 là áp lực hơi nước. Nước nguyên chất có $a_w = 1$, nước biển có $a_w = 0,980$, máu người có $a_w = 0,995$, cá muối có $a_w = 0,750$; kẹo, mứt có $a_w = 0,700$.

Mỗi sinh vật thường có một trị số a_w tối thích và một trị số a_w tối thiểu. Một số sinh vật có thể phát triển được trong môi trường có trị số a_w rất thấp, người ta gọi chúng là các vi sinh vật chịu áp (osmophyl). Chẳng hạn a_w có thể chấp nhận được của *Saccharomyces rouxii* là 0,850; của *Saccharomyces bailii*; của *Penicillium* là 0,800; của *Halobacterium*, *Halococcus* là 0,750; của *Xeromyces bisporus* là 0,700 ...

Phần nước có thể tham gia vào các quá trình trao đổi chất của vi sinh vật được gọi là nước tự do. Đa phần nước trong tế bào vi sinh vật tồn tại ở dạng nước tự do. Nước kết hợp là phần nước liên kết với các hợp chất hữu cơ cao phân tử trong tế bào (protein, lipid, hidrat cacbon ...). Nước liên kết mất khả năng hoà tan và lưu động.

Muối khoáng chiếm khoảng 2 - 5% khối lượng khô của tế bào. Chúng thường tồn tại dưới dạng các muối sunphat, photphat, cacbonat, clorua ... Trong tế bào chúng thường ở dạng các ion. Dạng cation chẳng hạn như Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+ , Na^+ ... Dạng anion chẳng hạn như HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , HCO_3^- , Cl^- ... Các ion trong tế bào vi sinh vật luôn tồn tại ở những tỷ lệ nhất định nhằm duy trì độ pH và lực thẩm thấu thích hợp cho từng loại vi sinh vật.

Bảng 2.3. Mức a_w thấp nhất đối với một số vi sinh vật

Số thứ tự	Nhóm vi sinh vật	a_w thấp nhất
1	Phần lớn vi khuẩn gram (-)	0,97

2	Phần lớn vi khuẩn gram (+)	0,90
3	Phần lớn nấm men	0,88
4	Phần lớn nấm sợi	0,80
5	Vi khuẩn ưa mặn	0,75

Cụ thể hơn ta có thể tham khảo bảng sau về khả năng phát triển của vi sinh vật ở những giá trị aw khác nhau.

Bảng 2.4. Khả năng phát triển của vi sinh vật ở giá trị aw tối thiểu khác nhau

Số thứ tự	Vi sinh vật	aw
1	Candia scottii	0,92
2	Trichosporon pullulans	0,91
3	Candida zeylanoides	0,90
4	Staphylococcus aureus	0,86
5	Atternaria citri	0,84

Chất hữu cơ

Chất hữu cơ trong tế bào vi sinh vật chủ yếu cấu tạo bởi các nguyên tố C, H, O, N, P, S ... Riêng 4 nguyên tố C, H, O, N đã chiếm tới 90 - 97% toàn bộ chất khô của tế bào. Đó là các nguyên tố chủ chốt để cấu tạo nên protein, axit nucleic, lipid, hidrat cacbon. Trong tế bào vi khuẩn các hợp chất đại phân tử thường chiếm tới 96% khối lượng khô, các chất đơn phân tử chỉ chiếm có 3,5% còn các ion vô cơ chỉ có 1% mà thôi.

Bảng 2.5. Thành phần hoá học của một tế bào vi khuẩn

(F.C Neidhardt, 1987)

Phân tử	% khối lượng khô (1)	Số phân tử/ tế bào	Số loại phân tử
Nước	-		1
Tổng số các đại phân tử	96	24.609.802	khoảng 2500
Protein	55	2.350.000	khoảng 1850
Polisaccarit	5	4.300	2 (2)

Lipit	9,1	22.000.000	4 (3)
ADN	3,1	2,1	1
ARN	20,5	255.500	khoảng 660
Tổng số các đơn phân tử	3,5		khoảng 350
Axit amin và tiền thể	0,5		khoảng 100
Đường và tiền thể	2		khoảng 50
Nucleotic và tiền thể	0,5		khoảng 200
Các ion vô cơ	1		18
Tổng cộng	100		

Chú thích :

(1) khối lượng khô của 1 tế bào vi khuẩn E.Coli đang sinh trưởng mạnh là $2,8 \times 10^{-13}$ g.

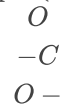
(2) : Peptidoglican và glicogen

(3) : Đó là 4 loại photpholipit, mỗi loại có nhiều nhóm khác nhau phụ thuộc vào thành phần axit béo.

a. Protein : cấu tạo chủ yếu bởi các nguyên tố : C (50 - 55%), O (21 - 24%), N (15 - 18%), H (6,5 - 7,3%), S (0 - 0,24%), ngoài ra còn có thể có một lượng rất nhỏ các nguyên tố khác nhau P, Fe, Zn, Cu, Mn, Ca ...

Protein được tạo thành từ các axit amin.

Khi hình thành protein các axit amin nối liền với nhau qua liên kết peptit (liên kết cộng hoá trị). Liên kết này (-



riph

CO-NH-) được tạo thành do phản ứng kết hợp giữa nhóm -cacboxyl của một axit amin này với nhóm -

amin (+H₃N-) của một axit amin khác và loại đi một phân tử nước :



Dạng không ion hoá Dạng ion lưỡng cực

của axit amin của axit amin

O O

+H₃N CH C + +H₃N CH C

R₁ O- O-

OO

+H₃N CH C NH CH C

Tùy số lượng axit amin liên kết với nhau mà ta có các dipeptit, tripeptit, tetrapeptot, pentapeptit ... Từ phân tử có 15 liên kết peptit trở lên ta gọi là polipeptit. Polipeptit này còn được gọi là protein. Có lúc 1 protein được tạo thành do vài polipeptit liên kết lại với nhau.

Có 20 loại axit amin tham gia vào cấu trúc của protein, số gốc axit amin là rất lớn vì vậy có thể tạo ra được tới 2018 loại protein khác nhau (hiện đã biết rõ cấu trúc 3 chiều của khoảng trên 100 loại protein). Các protein này có thể được xếp loại theo hình dạng, theo cấu trúc hoặc theo chức năng.

Axit amin oligopeptit (dipeptit, tripeptit ...)

Polipeptit

Protein

- Xếp loại theo hình dạng :- Protein hình sợi

- Protein hình cầu

- Xếp loại theo cấu trúc :

- Protein đơn giản

- Protein phức tạp (protein kết hợp)

- Nucleoprotein

(Protein + axit nucleic)

- Glicoprotein

(Protein + hidrat cacbon)

- Mucoprotein

(Protein + mucopolisaccarit)

- Photphoprotein

(Protein + axit photphoric)

- Cromoprotein

(Protein + hợp chất có màu)

- Metaloprotein

(Protein + kim loại)

- Xếp loại theo chức năng

- Protein phi hoạt tính (kiến tạo, dự trữ ...)
- Protein hoạt tính (xúc tác, vận tải, chuyển động, truyền xung thần kinh, điều hoà, bảo vệ ...)

Trong tế bào vi sinh vật ngoài protein, peptit còn có cả những axit amin ở trạng thái tự do.

Axit nucleic cấu tạo chủ yếu bởi N (1 - 16%), P (9 - 10%), phần còn lại là C, H, O. Căn cứ vào đường pentozơ trong phân tử mà axit nucleic được chia thành 2 loại: ADN (axit deoxyribonucleic, chứa deoxyribozơ) và ARN (axit ribonucleic, chứa ribozơ).

Các sản phẩm thủy phân của 2 loại axit nucleic này là như sau:

Axit photphoric

ARN Polinucleotit NucleotitD - Ribozơ

Nucleozit

Bazơ nitơ

- Adenin (A)
- Guanin (G)
- Uraxin (G)
- Xitozin (X)

Axit photphoric

ADN Polinucleotit Nucleotit D - 2 - Deoxyribozơ

Nucleozit

Bazơ nitơ

- Adenin (A)
- Guanin (G)
- Timin (T)
- Xitozin (X)

Tỷ lệ G + X ở các vi sinh vật khác nhau là có thể không giống nhau. Đây là một chỉ tiêu quan trọng được sử dụng trong phân loại vi sinh vật trong giai đoạn hiện nay.

b. Hydrat cacbon (cấu tạo bởi C, H, O) ở vi sinh vật có thể chia thành 3 nhóm:

- Monosaccarit:

+ Pentozơ : ribozơ, deoxyribozơ

+ Hexozơ : glucozơ, fructozơ, galactozơ

- Oligosaccarit:

+ Disaccarit: saccarozơ, lactozơ, maltozơ ...

+ Trisaccarit: rafinozƠ ...

- Poligosaccarit : tinh bột, glixerin, dextrin, xenlulozƠ, axit hialuronic ...

c. Lipit trong tế bào vi sinh vật thường có 2 nhóm: lipit đơn giản và lipit phức tạp (lipoit).

- Lipit đơn giản (este của glixerin và axit béo): chủ yếu là triaxinglixerol.

- Lipit phức tạp:

+ Photpholipit : chủ yếu là photphoglixerit ...

+ Glicolipit: galactozylglixerit, sulfoglucozylglixerit ...

Có những loại nấm men lượng lipit chứa tới 50 - 60% lipit. Photpholipit kết hợp với protein tạo thành lipoprotein. Chúng tham gia vào cấu trúc của màng tế bào chất, màng ti thể ...

d. Vitamin : Có sự khác nhau rất lớn trong nhu cầu của vi sinh vật. Có những vi sinh vật tự dưỡng chất sinh trưởng (auxoautotroph) chúng có thể tự tổng hợp ra các vitamin cần thiết. Nhưng cũng có nhiều loại vi sinh vật dị dưỡng chất sinh trưởng (auxoheterotroph), chúng đòi hỏi phải cung cấp ít hoặc nhiều loại vitamin khác nhau. Vai trò của một số vitamin trong hoạt động sống của vi sinh vật được hiểu tóm tắt như sau :

Bảng 2.6. Vai trò của vitamin đối với vi sinh vật

Vitamin	Dạng coenzim	Chức năng
Tiamin (avevrin, B1)	Tiamin pirophotphat (TPP)	Oxi hoá và khử cacboxyl các ketoaxit, chuyển nhóm aldeit
Riboflavin (lactoflavin, B2)	Flavinmononucleotit(FMN), flavin adenin dinucleotit (FAD)	Chuyển hydro
Axit pantotenic (B3)	Coenzim A	Oxi hoá ketoaxit và tham gia vào trao đổi chất của axit béo
Niabin (a. nicotinic, nicotinamin, B5)	Nicotin adeninDinucleotit (NAD) và NADP	Khử hydro và chuyển hydro
Piridoxin (pirdoxal, piridoxamin, B6)	Piridoxal photphat	Chuyển amin, khử amin, khử cacboxyl raxemin hoá axit amin
Biotin (B7, H)Axit folic (folaxin, B9, M, Bc ...)	Biotin Axit tetrahydrofolic	Chuyển CO ₂ và nhóm cacboxilicChuyển đơn vị 1 cacbonChuyển CO ₂ các nhóm cacboxilic

--	--	--

(Axit APAB paraaminobenzoic, B10)	Axit tetrahydrofolic	Chuyển đơn vị 1 cacbon
Xianocobalamin (cobalamin, B12)	Metilxianocobalamit	Chuyển nhóm metyl
Axit lipoic	Lipoamit	Chuyển nhóm axyl và nguyên tử hydro
Axit ascorbic(Vitamin C)		Là cofacto trong hydroxyl hoá
Ecgocanxiferol(Vitamin D2)	1,25 - dihidroxicole-canxiferol	Trao đổi canxi và photpho

Các nguồn dinh dưỡng chính của vi sinh vật

Nguồn thức ăn cacbon của vi sinh vật

Căn cứ vào nguồn thức ăn cacbon mà người ta chia vi sinh vật thành các nhóm sinh lý sau đây:

* Nhóm 1: Tự dưỡng

- Tự dưỡng quang năng. Nguồn C là CO₂, nguồn năng lượng là ánh sáng.
- Tự dưỡng hoá năng. Nguồn C là CO₂, nguồn năng lượng là một số hợp chất vô cơ đơn giản.

* Nhóm 2: Dị dưỡng

- Dị dưỡng quang năng

Nguồn C là chất hữu cơ ..., nguồn năng lượng là ánh sáng, ví dụ ở vi khuẩn không lưu huỳnh màu tía.

- Dị dưỡng hoá năng:

Nguồn C là chất hữu cơ, nguồn năng lượng là từ sự chuyển hoá trao đổi chất của chất nguyên sinh của một cơ thể khác. Ví dụ ở động vật nguyên sinh, nấm, một số vi khuẩn.

- Hoại sinh:

Nguồn C là chất hữu cơ. Nguồn năng lượng là từ sự trao đổi chất của chất nguyên sinh các xác hữu cơ. Ví dụ ở nhiều nấm, vi khuẩn.

- Ký sinh :

Nguồn C là chất hữu cơ. Nguồn năng lượng là lấy từ các tổ chức hoặc dịch thể của một cơ thể sống. Ví dụ các vi sinh vật gây bệnh cho người, động vật, thực vật.

Như vậy là tùy nhóm vi sinh vật mà nguồn cacbon được cung cấp có thể là chất vô cơ (CO₂, NaHCO₃, CaCO₃ ...) hoặc chất hữu cơ. Giá trị dinh dưỡng và khả năng hấp thụ các nguồn thức ăn cacbon khác nhau phụ thuộc vào 2 yếu tố : một là thành phần hoá học và tính chất sinh lý của nguồn thức ăn này, hai là đặc điểm sinh lý của từng loại vi sinh vật. Trên thế giới hầu như không có hợp chất cacbon hữu cơ nào mà không bị hoặc nhóm vi sinh vật này hoặc nhóm vi sinh vật khác phân giải. Không ít vi sinh vật có thể đồng hóa được cả các hợp chất cacbon rất bền vững như cao su, chất dẻo, dầu mỡ, parafin, khí thiên nhiên. Ngay focmon là một hoá chất diệt khuẩn rất mạnh nhưng cũng có nhóm nấm sợi sử dụng làm thức ăn.

Nhiều chất hữu cơ vì không tan được trong nước hoặc vì có khối lượng phân tử quá lớn cho nên trước khi được hấp thụ, vi sinh vật phải tiết ra các enzym thủy phân (amilaza, xenlulaza, pectinaza, lipaza ...) để chuyển hoá chúng thành các hợp chất dễ hấp thụ (đường, axit amin, axit béo ...)

Người ta thường sử dụng đường để làm thức ăn cacbon khi nuôi cấy phần lớn các vi sinh vật dị dưỡng. Cần chú ý rằng đường đơn ở nhiệt độ cao có thể bị chuyển hoá thành loại hợp chất có màu tối gọi là đường cháy rất khó hấp thụ. Trong môi trường kiềm sau khi khử trùng đường còn dễ bị axit hoá và làm biến đổi pH môi trường. Để tránh các hiện tượng này khi khử trùng môi trường chứa đường người ta thường chỉ hấp ở áp lực 0,5 atm (112,50C) và duy trì trong 30 phút. Với các loại đường đơn tốt nhất là nên sử dụng phương pháp hấp gián đoạn (phương pháp Tyndal) hoặc lọc riêng dung dịch đường (thường dùng nồng độ 20%) bằng nệm lọc hoặc màng lọc vi khuẩn sau đó mới dùng thao tác vô trùng để bổ sung vào các môi trường đã khử trùng.

Khi chế tạo các môi trường chứa tinh bột trước hết phải hồ hoá tinh bột ở nhiệt độ 60 - 700C sau đó đun sôi rồi mới đưa đi khử trùng ở nổi hấp áp lực.

Xenlulozơ được đưa vào các môi trường nuôi cấy vi sinh vật phân giải xenlulozơ dưới dạng giấy lọc, bông hoặc các loại bột xenlulozơ (cellulose powder, avicel ...)

Khi sử dụng lipid, parafin, dầu mỡ ... để làm nguồn cacbon nuôi cấy một số loại vi sinh vật phải thông khí mạnh để cho từng giọt nhỏ có thể tiếp xúc được với thành tế bào từng vi sinh vật.

Để nuôi cấy các loại vi sinh vật khác nhau người ta dùng các nồng độ đường không giống nhau. Với vi khuẩn, xạ khuẩn người ta thường dùng 0,5 - 0,2% đường còn đối với nấm men, nấm sợi lại thường dùng 3 - 10% đường.

Hầu hết vi sinh vật chỉ đồng hoá được các loại đường ở dạng đồng phân D. Cũng may là phần lớn các đồng phân của đường đơn trong tự nhiên đều là thuộc loại D chứ không phải loại L.

Các hợp chất hữu cơ chứa cả C và N (pepton, nước thịt, nước chiết ngô, nước chiết nấm men, nước chiết đại mạch, nước chiết giá đậu ...) có thể sử dụng vừa làm nguồn C vừa làm nguồn N đối với vi sinh vật.

Phạm vi đồng hoá các nguồn thức ăn cacbon của từng loài vi sinh vật cụ thể rất khác nhau. Có thực nghiệm cho thấy loài vi khuẩn *Pseudomonas cepacia* có thể đồng hoá trên 90 loại nguồn thức ăn cacbon khác nhau, trong khi đó các vi khuẩn sinh metan chỉ có thể đồng hoá được CO₂ và vài loài hợp chất chứa 1C hoặc 2C mà thôi.

Với vi sinh vật dị dưỡng nguồn thức ăn cacbon làm cả hai chức năng : nguồn dinh dưỡng và nguồn năng lượng.

Một số vi khuẩn dị dưỡng, nhất là các vi khuẩn gây bệnh sống trong máu, trong các tổ chức hoặc trong ruột của người và động vật muốn sinh trưởng được ngoài nguồn cacbon hữu cơ còn cần phải được cung cấp một lượng nhỏ CO₂ thì mới phát triển được.

Trong công nghiệp lên men nguồn rỉ đường là nguồn cacbon rẻ tiền và rất thích hợp sử dụng đối với nhiều loại vi sinh vật khác nhau.

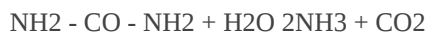
Bảng 2.7. Thành phần hoá học của rỉ đường mía và rỉ đường củ cải

Thành phần	Tỷ lệ	Rỉ đường củ cải	Rỉ đường mía
Đường tổng số	%	48 - 52	48 - 56

Chất hữu cơ khác đường	%	12 - 17	9 - 12
Protein (N x 6,25)	%	6 - 10	2 - 4
Kali	%	2,0 - 7,0	1,5 - 5,0
Canxi	%	0,1 - 0,5	0,4 - 0,8
Magie	%	khoảng 0,09	khoảng 0,06
Photpho	%	0,02 - 0,07	0,6 - 2,0
Biotin	Mg/kg	0,02 - 0,15	1,0 - 3,0
Axit pantotenic	Mg/kg	50 - 110	15 - 55
Inozitol	Mg/kg	5000 - 8000	2500 - 6000
Tiamin	Mg/kg	khoảng 1,3	khoảng 1,8

Nguồn thức ăn Nitơ của vi sinh vật

ureaza Nguồn Nitơ dễ hấp thụ nhất đối với vi sinh vật là NH_3 và NH_4^+ . Trước đây có quan điểm cho rằng một số vi khuẩn không có khả năng đồng hoá muối amon. Quan điểm này không đúng. Ngày nay người ta cho rằng tất cả các loại vi sinh vật đều có khả năng sử dụng muối amon. Đôi khi có những loại vi sinh vật không phát triển được trên các môi trường chứa muối amon thì nguyên nhân không phải ở bản thân gốc NH_4^+ mà là ở độ chua sinh lý do các muối này tạo ra. Sau khi đồng hóa gốc NH_4^+ trong môi trường sẽ tích lũy các anion vô cơ (SO_4^{2-} , HPO_4^{2-} , Cl^- ...) và vì thế mà làm hạ thấp rất nhiều trị số pH của môi trường. Muối amon của các axit hữu cơ ít làm chua môi trường hơn do đó có lúc được sử dụng nhiều hơn (mặc dầu đắt hơn). Ure là nguồn thức ăn nitơ trung tính về mặt sinh lý. Khi bị phân giải bởi enzym ureaza, ure sẽ giải phóng thành NH_3 và CO_2 . Phần NH_3 được vi sinh vật sử dụng mà không làm chua môi trường như đối với các muối amon :



Nhiều khi để nuôi cấy vi sinh vật bằng nguồn nitơ là ure người ta phải bổ sung thêm muối amon (như amon sunfat chẳng hạn). Sở dĩ như vậy là bởi vì phải có thức ăn nitơ dễ hấp thụ cho vi sinh vật phát triển đã thì mới có thể sản sinh ra được ureaza để thủy phân ure.

Cũng có loại vi sinh vật sở dĩ không phát triển được trên môi trường chỉ có nguồn thức ăn nitơ là muối amon không phải vì không đồng hoá được muối này mà là do chúng đòi hỏi phải được cung cấp thêm một vài loại axit amin không thay thế nào đó.

Muối nitrat là nguồn thức ăn nitơ thích hợp đối với nhiều loại tảo, nấm sợi và xạ khuẩn nhưng ít thích hợp đối với nhiều loại nấm men và vi khuẩn. Sau khi vi sinh vật sử dụng hết gốc NO_3^- các ion kim loại còn lại (K^+ , Na^+ , Mg^{2+} ...) sẽ làm kiềm hoá môi trường. Để tránh hiện tượng này người ta thường sử dụng muối NH_4NO_3 để làm nguồn nitơ cho nhiều loại vi sinh vật. Tuy nhiên gốc NH_4^+ thường bị hấp thụ nhanh hơn, rồi mới hấp thụ đến gốc NO_3^- .

Nguồn nitơ có dự trữ nhiều nhất trong tự nhiên là nguồn khí nitơ tự do (N_2) trong khí quyển. Chúng chiếm tỷ lệ rất cao trong không khí (75,5% theo khối lượng hoặc 78,16% theo thể tích). Số lượng nitơ trong lớp khí quyển bên trên mỗi ha đất đai nhiều tới 85000 tấn, còn tổng số nitơ trong cả khí quyển là khoảng 4.000.000.000.000.000 tấn. Trong khí Nitơ (N_2) hai nguyên tử N liên kết với nhau bằng 3 dây nối rất bền vững ($\text{N} \equiv \text{N}$). Năng lượng của 3 dây nối này cao tới 225 kcal/M. Chính vì vậy mà N_2 rất khó kết hợp với các nguyên

tổ khác và nitơ có rất nhiều chung quanh ta mà cả người, cả động vật lẫn cây trồng đều luôn luôn thiếu thốn thức ăn nitơ. Chẳng hạn ở nhà máy phân đạm hoá học, muốn làm cho N₂ liên kết được với N₂ để tạo thành NH₃ người ta đã phải dùng một nhiệt độ là 5000C và một áp suất cao tới 350 atm.

Đa số vi sinh vật không có khả năng đồng hoá N₂ trong không khí. Tuy nhiên có những vi sinh vật có thể chuyển hoá N₂ thành NH₃ nhờ hoạt động xúc tác của một hệ thống enzym có tên gọi là nitrogenaza. Người ta gọi các vi sinh vật này là vi sinh vật cố định nitơ (nitrogen - fixing microorganisms) còn quá trình này được gọi là quá trình cố định nitơ (nitrogen fixation). Chúng ta sẽ xem xét quá trình này ở một chương khác.

Vi sinh vật còn có khả năng đồng hoá rất tốt nitơ chứa trong các thức ăn hữu cơ. Các thức ăn này sẽ vừa là nguồn cacbon vừa là nguồn nitơ cung cấp cho vi sinh vật. Vi sinh vật không có khả năng hấp thụ trực tiếp các protein cao phân tử. Chỉ có các polipeptit chứa không quá 5 gốc axit amin mới có thể di truyền trực tiếp qua màng tế bào chất của vi sinh vật. Rất nhiều vi sinh vật có khả năng sản sinh proteaza xúc tác việc thủy phân protein thành các hợp chất phân tử thấp có khả năng xâm nhập vào tế bào vi sinh vật.

Nguồn nitơ hữu cơ thường được sử dụng để nuôi cấy vi sinh vật là pepton loại chế phẩm thủy phân không triệt để của một nguồn protein nào đấy. Chúng khác nhau về lượng chứa các loại polipeptit và lượng chứa axit amin tự do.

Về axit amin người ta nhận thấy có thể có ba quan hệ khác nhau đối với từng loại vi sinh vật. Có những loại vi sinh vật không cần đòi hỏi phải được cung cấp bất kỳ loại axit amin nào. Chúng có khả năng tổng hợp ra toàn bộ các axit amin mà chúng cần thiết từ NH₄⁺ và các chất hữu cơ không chứa nitơ. Người ta gọi nhóm vi sinh vật này là nhóm tự dưỡng amin. Có những loại vi sinh vật ngược lại bắt buộc phải được cung cấp một hoặc nhiều axit amin mà chúng cần thiết. Chúng không có khả năng tự tổng hợp ra được các axit amin này. Người ta gọi chúng là nhóm dị dưỡng amin. Loại thứ ba là loại các vi sinh vật không có các axit amin trong môi trường vẫn phát triển được, nhưng nếu có mặt một số axit amin nào đó thì sự phát triển của chúng sẽ được tăng cường hơn nhiều.

Nhu cầu về axit amin của các loại vi sinh vật khác nhau là rất khác nhau. Trong khi các loài động vật khác nhau rất xa thường cũng chỉ có nhu cầu giống nhau về các axit amin thì giữa các loài vi sinh vật rất giống nhau về hình thái và rất gần nhau về vị trí phân loại lại có thể đòi hỏi rất khác nhau về các axit amin. Các axit amin mà cơ thể sinh vật đòi hỏi phải được cung cấp (cũng tức là các axit amin mà cơ thể sinh vật không tự tổng hợp được) gọi là các axit amin không thay thế. Danh sách các axit amin không thay thế đối với mỗi loài sinh vật được gọi là aminogram của loài ấy. Aminogram của vi sinh vật rất khác nhau. Nhiều loại vi khuẩn tuy thuộc nhóm dị dưỡng amin nhưng chỉ đòi hỏi 1 - 2 loại axit amin nào đó. Trong khi đó có loại vi sinh vật nếu không được cung cấp đầy đủ 17 - 18 loại axit amin thì không thể phát triển được. Không có các axit amin không thay thế chung cho tất cả các vi sinh vật. Cái là cần thiết với loại vi sinh vật này có thể là hoàn toàn không cần thiết đối với loại vi sinh vật khác.

Đối với đa số các loài vi khuẩn người ta thường nuôi cấy có thành phần như sau :

Pepton5g

Cao thịt3g

NaCl8g

Nước cất1000 ml

Nếu làm môi trường đặc thì bổ sung thêm 15 - 20g thạch (tùy theo chất lượng của thạch).

Tuy vậy có những vi sinh vật để nuôi cấy được ta phải chuẩn bị môi trường với rất nhiều thành phần khác nhau.

Các đồng phân axit amin dãy D thường không được vi sinh vật hấp thụ. Chúng thường mang tính độc tính đối với tế bào. Người ta biết các D - axit amin có thể có mặt trong một số loại chất kháng sinh (như gramixidin,

polimixin, actonomixin ...). Chỉ có một số loại nấm mốc có chứa enzym raxemaza mới có khả năng chuyển hoá D - axit amin thành L -axit amin.

Để tìm hiểu mối quan hệ với axit amin của một chủng vi sinh vật nào đó trước hết người ta cấy chủng vi sinh vật này lên một môi trường dinh dưỡng có nguồn Nitơ duy nhất là muối amon. Nếu chúng phát triển được thì chúng tỏ chúng thuộc nhóm tự dưỡng amin. Nếu chúng không phát triển được và sau khi bổ sung hỗn dịch axit amin (dịch thủy phân casein có trộn thêm triptophan) lại phát triển tốt chúng tỏ chúng thuộc nhóm dị dưỡng amin. Nếu bổ sung hỗn dịch axit amin rồi mà chúng vẫn không phát triển được thì phải tìm xem còn những nhu cầu nào khác chưa được đáp ứng (về nguồn cacbon, về vitamin, về chất khoáng, về pH, về thế ôxi hoá khử của môi trường).

Muốn biết rõ mối quan hệ của một chủng vi sinh vật với từng loại axit amin riêng biệt, người ta phải sử dụng những môi trường có chứa đầy đủ nguồn thức ăn cacbon, khoáng, vitamin (ở dạng hoá chất tinh khiết) nhưng không chứa axit amin. Lần lượt bổ sung từng loại axit amin vào môi trường và theo dõi ảnh hưởng của chúng đối với sự phát triển của chủng vi sinh vật này. Cũng có thể dựa vào môi trường một hỗn dịch đầy đủ các axit amin và các hỗn dịch đã loại bỏ một cách phân biệt từng axit amin một. Theo dõi sự phát triển của vi sinh vật sẽ xác định được nhu cầu của chúng đối với từng loại axit amin.

Kết quả thực nghiệm trình bày trong bảng dưới đây cho thấy trong số các vi sinh vật dị dưỡng amin tùy loài, thậm chí tùy từng typ khác nhau, mà có những mối quan hệ rất khác nhau đối với các axit amin.

Nói chung các vi khuẩn gây bệnh, vi khuẩn gây thối, vi khuẩn lactic (sống trong sữa) ... thường đòi hỏi phải được cung cấp nhiều axit amin có sẵn. Các loài vi khuẩn thường sống trong đất (Azotobacter, Clostridium pasteurianum, các vi khuẩn tự dưỡng hoá năng ...) có khả năng tự tổng hợp tất cả các axit amin cần thiết đối với chúng. Nấm mốc, nấm men và xạ khuẩn cũng thường không đòi hỏi các axit amin có sẵn. Tuy nhiên sự có mặt của các axit amin trong môi trường sẽ làm nâng cao tốc độ phát triển của chúng.

Bảng 2.8. Mối quan hệ của VSV với các axit amin khác nhau

Loại axit amin	LOẠI SINH VẬT					
	Động vật có vú	Staphylococcus gây tan máu	Lactobacterium casei	Streptococcus faecalis	Corynebacterium diphtheria	
					HY	PW8
						Sta toc aur

Lizin	+	+	(+)	+	-	-
Acginin	(+)	+	+	+	-	-
Histidin	+	+	(+)	-	+	-
Phenylalanin	+	+	+	-	+	-
Tirozin	-	+	+	(+)	-	-
Triptophan	+	+	+	+	+	-
Prolin	-	+	-	-	-	-
Glixin	-	+	-	+	+	-
Alanin	-	+	(+)	+	-	-
Valin	+	+	+	-	+	+
Lơxin	+	+	+	+	-	+
Izolơxin	+	+	(+)	+	-	-
Xerin	-	+	+	+	-	-
Treonin	+	+	(+)	+	-	-
Xixtein	-	+	+	(+)	+	+
Metionin	+	+	(+)	-	+	+
Axit asparaginic	-	+	+	+	-	-
Axit glutamic	-	-	+	+	+	+

Ghi chú :+ : Cần thiết

- : Không cần thiết

(+): Có tác dụng kích thích

Nhiều loại vi sinh vật có khả năng dùng một loại axit amin nào đó làm nguồn thức ăn nitơ duy nhất. Chúng sẽ phân giải axit amin này thành NH₃ rồi sau đó tự tổng hợp nên hàng loạt các axit amin khác.

Có những chủng vi sinh vật biểu hiện mối quan hệ rất mật thiết giữa nồng độ của một axit amin nào đó trong môi trường và mức độ phát triển của chúng. Người ta gọi chúng là những vi sinh vật chỉ thị và dùng chúng trong việc định lượng axit amin.

Nguồn thức ăn khoáng của vi sinh vật

Khi sử dụng các môi trường thiên nhiên để nuôi cấy vi sinh vật người ta thường không cần thiết bổ sung các nguyên tố khoáng. Trong nguyên liệu dùng làm các môi trường này (khoai tây, nước thịt, sữa, huyết thanh, pepton, giá đậu ...) thường có chứa đủ các nguyên tố khoáng cần thiết đối với vi sinh vật. Ngược lại khi làm các môi trường tổng hợp (dùng nguyên liệu là hoá chất) bắt buộc phải bổ sung đủ các nguyên tố khoáng cần thiết. Những nguyên tố khoáng mà vi sinh vật đòi hỏi phải được cung cấp với liều lượng lớn được gọi là các nguyên tố đại lượng. Còn những nguyên tố khoáng mà vi sinh vật chỉ đòi hỏi với những liều lượng rất nhỏ được gọi là các nguyên tố vi lượng.

Nồng độ cần thiết của từng nguyên tố vi lượng trong môi trường thường chỉ vào khoảng 10-6 - 10-8M.

Hàm lượng các chất khoáng chứa trong nguyên sinh chất vi sinh vật thường thay đổi tùy loài, tùy giai đoạn phát triển và tùy điều kiện nuôi cấy. Thành phần khoáng của tế bào các loài vi sinh vật khác nhau thường là chênh lệch nhau rất nhiều. Chẳng hạn có nghiên cứu (Mesrobiana và Peuneska, 1963) cho biết thành phần khoáng ở một số vi khuẩn gây bệnh như sau (% chất khoáng) :

P2O54,93 - 74,38Na2O0,2 - 28,08

K2O2,4 - 39,8Cl0,03 - 43,69

SO30,5 - 28,8MgO0,12 - 12,0

CaO0,3 - 14,0

Nhu cầu của vi sinh vật cũng không giống nhau đối với tùy loài, tùy giai đoạn phát triển. Người ta nhận thấy nồng độ cần thiết về các muối khoáng đối với vi khuẩn, nấm và xạ khuẩn thường thay đổi trong các phạm vi sau đây :

Bảng 2.9. Nồng độ cần thiết về muối khoáng của vi sinh vật

Muối khoáng	Nồng độ cần thiết (g/l)	
	Đối với vi khuẩn	Đối với nấm và xạ khuẩn
K2HPO4	0,2 - 0,5	1 - 2
KH2PO4	0,2 - 0,5	1 - 2
MgSO4. 7H2O	0,1 - 0,2	0,2 - 0,5
MnSO4. 4H2O	0,005 - 0,01	0,02 - 0,1
FeSO4. 7H2O	0,005 - 0,01	0,05 - 0,02
Na2MO4	0,001 - 0,05	0,01 - 0,02

ZnSO ₄ . 7H ₂ O	-	0,02 - 0,1
CoCl ₂	tới 0,03	tới 0,06
CaCl ₂	0,01 - 0,03	0,02 - 0,1
CaSO ₄ . 5H ₂ O	0,001 - 0,005	0,01 - 0,05

Thành phần môi trường có thể thay đổi tùy theo một sự tính toán nào đó để sao cho nồng độ chung của mỗi cation hoặc mỗi anion phù hợp với số lượng đã nêu lên trong bảng nói trên.

- P bao giờ cũng chiếm tỷ lệ cao nhất trong số các nguyên tố khoáng của tế bào vi sinh vật (nhiều khi P chiếm đến 50% so với tổng số chất khoáng). P có mặt trong cấu tạo của nhiều thành phần quan trọng của tế bào (axit nucleic, photphoprotein, photpholipit, nhiều coenzim quan trọng như ADP, ATP, UDP, UTP, XDP, XTP, NAD, NADP, Flavin ... ; một số vitamin như tiamin, biotin ...). Để đảm bảo nguồn dinh dưỡng photpho, người ta thường sử dụng các loại photphat vô cơ. Việc bổ sung photphat (nhất là photphat kali) vào các môi trường dinh dưỡng ngoài tác dụng cung cấp P còn có tác dụng tạo ra tính đệm của môi trường. Với các tỷ lệ thích hợp hỗn hợp muối KH₂PO₄ và K₂HPO₄ có thể tạo ra những mức pH ổn định trong khoảng pH = 4,5 - 8,0 trong môi trường axit K₂HPO₄ sẽ tạo ra ion H⁺ :



- S cũng là một nguyên tố khoáng quan trọng trong tế bào vi sinh vật. S có mặt trong một số axit amin (xixtin, xixtein, metionin), một số vitamin (biton, tiamin ...). xixtin, xixtein và một tripeptit là glutation không những tham gia vào cấu trúc protein mà còn có vai trò quan trọng trong các quá trình oxi hoá khử. Việc chuyển nhóm sunphidrin thành nhóm disunphit có vai trò rất lớn trong quá trình chuyển điện tử từ nguyên liệu hô hấp đến oxi phân tử.



Các hợp chất hữu cơ có chứa lưu huỳnh ở dạng oxi hoá thường có tác dụng độc đối với tế bào vi sinh vật (có thể kể tới trường hợp streptoxit và các sunphamit khác). Trong khi đó các muối sunphat vô cơ với nguyên tử lưu huỳnh cũng ở trạng thái oxi hoá thì lại được cơ thể vi sinh vật đồng hoá rất tốt. Một số vi sinh vật có thể dùng cả S₂O₃²⁻ (tiosunphat) làm nguồn thức ăn lưu huỳnh. Một số vi sinh vật khác lại đòi hỏi các thức ăn chứa lưu huỳnh ở dạng khử (H₂S, xixtin, xixtein ...)

- Fe là nguyên tố rất cần thiết để giúp vi sinh vật có thể tổng hợp một số men loại pocphirin chứa sắt (như xitocrom, xitocromoxidaza, peroxidaza, catataza ...). Nguyên tử nitơ của 4 nhân piron nhờ các liên kết hoá học thông thường là các liên kết hoá học phụ. Một số vi sinh vật tự dưỡng quang năng còn sử dụng sắt để tổng hợp ra các sắc tố quang hợp có cấu trúc pocphirin (clorophin, bacterioclorophin).

- Mg là nguyên tố được vi sinh vật đòi hỏi cũng với lượng khá cao (10⁻³ - 10⁻⁴M). Mg mang tính chất một cofacto, chúng tham gia vào nhiều phản ứng enzym có liên quan đến các quá trình photphoryl hoá (chuyển H₃PO₄ từ một hợp chất hữu cơ này sang một hợp chất hữu cơ khác). Mg²⁺ có thể làm hoạt hoá các hexokinaza, ATP-aza, pirophotphataza, photphopheraza, transaxetylaza, photphoglucomutaza, cacboxylaza, enolaza, các men trao đổi protein, các men oxi hoá khử của chu trình Krebs (tất cả khoảng trên 80 enzym khác nhau). Mg²⁺ còn có vai trò quan trọng trong việc làm liên kết các tiểu phần riboxom với nhau.

- Ca mặc dầu là nguyên tố ít tham gia vào việc xây dựng nên các hợp chất hữu cơ nhưng nó có vai trò đáng kể trong việc xây dựng các cấu trúc tinh vi của tế bào. Canxi đóng vai trò cầu nối trung gian giữa nhiều thành phần quan trọng của tế bào sống (như giữa ADN và protein trong nhân, giữa các nucleotit với nhau, giữa ARN và protein trong riboxom). Canxi rất cần thiết đối với việc hình thành các cấu trúc không gian ổn định của nhiều bào quan như riboxom, ti thể, nhân ...

- Zn cũng là một cofacto tham gia vào nhiều quá trình enzym. Zn có tác dụng đáng kể trong việc hoạt hoá các enzym như cacboanhidraza, enolaza, photphataza kiềm, pirôphphataza, lōxitinaza ..

- Mn có chứa trong một số enzym hô hấp. Mn cũng có vai trò quan trọng trong việc làm hoạt hoá một số enzym như photphomonoesteraza, cacboxylaza, ATP-aza, hidroxyamin reductaza, acginaza, aminopeptidaza, enolaza, photphoglucomutaza ...

Việc hoạt hoá các enzym không phải lúc nào cũng mang tính chất đặc hiệu. Lấy ví dụ như enzym izoxitratliaza (tách từ vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*) có thể được hoạt hoá bởi nhiều ion khác nhau (Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} hoặc Co^{2+}). Có trường hợp một ion kim loại này lại có tác dụng đối với một ion kim loại khác. Chẳng hạn ion Na^{+} có thể làm ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus casei* nhưng tác dụng ức chế này có thể bị mất đi nếu bổ sung thêm vào môi trường các ion K^{+} chắc rằng đã có sự cạnh tranh giữa hai ion này trong việc liên kết với các enzym hoặc coenzim.

Cũng có những nguyên tố hoá học ta chưa hiểu rõ về vai trò sinh lý của chúng. Trong số các nguyên tố này phải kể đến Kali.

- K là nguyên tố chiếm một tỷ lệ khá cao trong thành phần khoáng của tế bào vi sinh vật, nhưng cho đến nay người ta chưa thấy Kali tham gia vào bất kỳ thành phần nào của nguyên sinh chất, cũng chưa tìm thấy bất kỳ enzym nào có chứa K. Người ta nhận thấy Kali thường tồn tại trong dạng ion K^{+} ở mặt ngoài cấu trúc tế bào. Kali làm tăng độ ngậm nước của các hệ thống keo do đó ảnh hưởng đến các quá trình trao đổi chất, nhất là các quá trình tổng hợp. Kali có thể còn tham gia vào quá trình tổng hợp một số vitamin (như tiamin ...) và có những ảnh hưởng đáng kể đến quá trình hô hấp của tế bào vi sinh vật.

- Na và Cl cũng là các nguyên tố mà nhiều vi sinh vật đòi hỏi với lượng không nhỏ, nhưng cho đến nay người ta vẫn còn biết rất ít về vai trò sinh lý của chúng. Hàm lượng Na và Cl đặc biệt cao trong tế bào các vi sinh vật ưa mặn sống trong nước biển, đất vùng ven biển hoặc sống trên các loại thực phẩm ướp mặn. Các vi sinh vật có thể được chia thành 3 nhóm : nhóm ưa mặn, thích hợp phát triển trên môi trường chứa 2 - 5% (khối lượng : thể tích) NaCl, nhóm ưa mặn vừa, thích hợp phát triển trên môi trường chứa 5 - 20% NaCl và nhóm ưa mặn cao, thích hợp phát triển trên môi trường chứa đến 20 - 30% NaCl.

Bình thường khi nuôi cấy vi sinh vật, người ta không cần bổ sung các nguyên tố vi lượng. Những nguyên tố này thường có sẵn trong nước máy, trong các hoá chất dùng làm môi trường hoặc có lẫn ngay trong thủy tinh của các dụng cụ nuôi cấy. Trong một số trường hợp cụ thể người ta phải bổ sung các nguyên tố vi lượng vào môi trường nuôi cấy vi sinh vật. Chẳng hạn bổ sung Zn vào các môi trường nuôi cấy nấm mốc, bổ sung Co vào các môi trường nuôi cấy vi sinh vật tổng hợp vitamin B12, bổ sung B và Mo vào môi trường nuôi cấy các vi sinh vật cố định đạm ...

Sự tồn tại một cách dư thừa các nguyên tố khoáng là không cần thiết và có thể dẫn đến những ảnh hưởng xấu. Chẳng hạn việc thừa P có thể làm giảm thấp hiệu suất tích lũy một số chất kháng sinh, thừa Fe sẽ làm cản trở quá trình tích lũy vitamin B2 hoặc vitamin B12.

Nhu cầu về chất sinh trưởng của vi sinh vật

Vấn đề một số vi sinh vật muốn phát triển cần phải được cung cấp những chất sinh trưởng nào đó thật ra đã được L. Pasteur phát hiện từ khoảng các năm 1859 - 1864. Pasteur nuôi cấy vi sinh vật trên các môi trường chứa thức ăn cacbon (đường, rượu, axit hữu cơ), muối amon và một số muối khoáng khác. Ông nhận thấy vi sinh vật phát triển rất yếu. Nhưng nếu bổ sung thêm một ít nước chiết các nguyên liệu thiên nhiên vào các môi trường nói trên thì sự phát triển của vi sinh vật sẽ tăng lên rất nhiều.

Về bản chất thì hiện nay ta đã xác định được phần lớn các vitamin là những thành phần của coenzim. Những hợp chất hữu cơ có bản chất phi protein tham gia vào những biến đổi do enzym xúc tác với tính chất là những yếu tố phù hợp không thể thiếu được.

Tuy nhiên, khái niệm «chất sinh trưởng» đối với vi sinh vật không hoàn toàn giống như khái niệm «vitamin» đối với cơ thể người và động vật. Đối với vi sinh vật thì chất sinh trưởng là một khái niệm rất linh động. Nó chỉ có ý nghĩa là những chất hữu cơ cần thiết đối với hoạt động sống mà một loại vi sinh vật nào đó không tự tổng hợp được ra chúng từ các chất khác.

Tùy thuộc vào khả năng sinh tổng hợp của từng loài vi sinh vật mà cùng một chất có thể là hoàn toàn không cần thiết (nếu vi sinh vật này tự tổng hợp nó) có thể là có tác dụng kích thích sinh trưởng (nếu vi sinh vật nào tự tổng hợp được nhưng nhanh chóng tiêu thụ hết) hoặc có thể là rất cần thiết đối với quá trình sinh trưởng phát triển, giống như là trường hợp các vitamin đối với người và động vật (nếu vi sinh vật này hoàn toàn không có khả năng tự tổng hợp được ra nó).

Như vậy là những chất được coi là chất sinh trưởng của loại vi sinh vật này hoàn toàn có thể không phải là chất sinh trưởng đối với một loại vi sinh vật khác. Hầu như không có chất nào là chất sinh trưởng chung đối với tất cả các loại vi sinh vật.

Đặc điểm của môi trường sống một mặt ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp chất sinh trưởng của vi sinh vật, mặt khác ảnh hưởng đến đặc điểm trao đổi chất của chúng. Chính thông qua các ảnh hưởng này mà môi trường sống của từng loại vi sinh vật đã góp phần quyết định nhu cầu của chúng về các chất sinh trưởng. Khi sống lâu dài trong các môi trường thiếu các chất sinh trưởng, vi sinh vật sẽ dần dần tạo ra được khả năng tự tổng hợp các chất sinh trưởng mà chúng cần thiết. Mặt khác do sống trong các điều kiện môi trường khác nhau, các loại vi sinh vật sẽ có thể có những kiểu trao đổi chất khác nhau cũng có nghĩa là đòi hỏi các hệ thống enzym khác nhau (do đó đòi hỏi các chất sinh trưởng khác nhau). Việc một loại vi sinh vật không đòi hỏi một chất sinh trưởng nào đó có thể do hai nguyên nhân : một là vi sinh vật này không tự tổng hợp ra được chất sinh trưởng đó, hai là trong quá trình trao đổi chất của loại vi sinh vật này không có sự tham gia của loại coenzim chứa chất sinh trưởng đó.

Cùng một loài sinh vật nhưng nếu nuôi cấy trong các điều kiện khác nhau cũng có thể có những nhu cầu khác nhau về chất sinh trưởng. Chẳng hạn nấm mốc *Mucor rouxii* được chứng minh là chỉ cần biotin và tiamin khi phát triển trong điều kiện kỵ khí. Khi nuôi cấy trong điều kiện hiếu khí, chúng sẽ tự tổng hợp ra được các chất sinh trưởng này. Điều kiện pH và nhiệt độ của môi trường nhiều khi cũng ảnh hưởng rõ rệt đến nhu cầu và chất sinh trưởng của vi sinh vật. Sự có mặt của một số chất dinh dưỡng có khi cũng ảnh hưởng đến nhu cầu và chất sinh trưởng của vi sinh vật. Chẳng hạn việc đòi hỏi axit pantotenic của một số vi sinh vật (ví dụ vi khuẩn bạch hầu *Corynebacterium diphtheriae*) có thể thỏa mãn khi chỉ cần cung cấp cho chúng -alanin. Chúng có thể tự tổng hợp được axit pnatonic mà như chúng ta đã biết axit pnatonic cấu tạo từ axit pnatonic và -alanin.

Những sinh vật nào có thể tự túc về mặt chất sinh trưởng được gọi là các vi sinh vật «tự dưỡng chất sinh trưởng», còn ngược lại những vi sinh vật đòi hỏi phải được cung cấp một hoặc nhiều chất sinh trưởng được gọi là các vi sinh vật «dị dưỡng chất sinh trưởng». Hoặc có thể dùng thêm một khái niệm khác là : Tất cả các vi sinh vật dị dưỡng amin và dị dưỡng chất sinh trưởng được xếp chung vào nhóm « dinh dưỡng chất sinh trưởng » còn tất cả các vi sinh vật có thể phát triển được mà không cần đòi hỏi bất kỳ một axit amin hoặc một chất sinh trưởng nào thì được xếp vào nhóm «nguyên sinh dưỡng».

Thông thường các chất được coi là chất sinh trưởng đối với một loại nào đó có thể thuộc về một trong các loại sau đây : các gốc kiềm purin, pirimidin và các dẫn xuất của chúng, các axit béo và các thành phần của màng tế bào, các vitamin thông thường ...

Các kiểu dinh dưỡng ở vi sinh vật

Vi sinh vật có thể sử dụng các nguồn cơ chất rất khác nhau để tồn tại và phát triển. Bởi vậy có rất nhiều kiểu dinh dưỡng khác nhau dựa vào nguồn chất dinh dưỡng hoặc dựa vào kiểu trao đổi năng lượng.

Dựa vào nguồn chất dinh dưỡng

+ Nguồn dinh dưỡng cacbon

a. Tự dưỡng cacbon :

Các vi sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng này có khả năng đồng hoá CO_2 hoặc các muối cacbonat để tạo nên các hợp chất cacbon hữu cơ của cơ thể. Một số loài như vi khuẩn nitrat hoá chỉ có thể sống trên nguồn cacbon vô cơ là CO_2 hoặc muối cacbonat gọi là tự dưỡng bắt buộc. Một số có khả năng sống trên nguồn cacbon vô cơ hoặc hữu cơ gọi là tự dưỡng không bắt buộc.

b. Dị dưỡng cacbon

Các vi sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng này không có khả năng đồng hoá các hợp chất cacbon vô cơ như CO_2 , muối cacbonat. Nguồn dinh dưỡng cacbon bắt buộc đối với chúng phải là các hợp chất hữu cơ, thường là các loại đường đơn.

Nhóm này lại được chia làm 2 nhóm dựa vào nhu cầu các chất hữu cơ : nhóm Prototroph chỉ yêu cầu một nguồn đường duy nhất và các loại muối khoáng. Nhóm Auxotroph ngoài đường và các loại muối khoáng còn đòi hỏi các chất sinh trưởng nhất định như vitamin, axit amin hay các bazơ purin hoặc purimidin.

+ Nguồn dinh dưỡng nitơ :

c. Tự dưỡng amin

Các vi sinh vật thuộc nhóm tự dưỡng amin có khả năng tự tổng hợp các axit amin của cơ thể từ các nguồn nitơ vô cơ hoặc hữu cơ, các muối amon của axit hữu cơ thích hợp hơn muối amon của axit vô cơ. Vì ở các muối amon vô cơ, sau khi phần NH_4^+ được vi sinh vật hấp thụ, phần anion còn lại như SO_4^{2-} , Cl^- sẽ kết hợp với ion H^+ có trong môi trường tạo thành các axit làm cho pH môi trường giảm xuống. Thuộc nhóm tự dưỡng amin bao gồm một số nhóm như nhóm vi khuẩn cố định nitơ, nhóm vi khuẩn amon hoá, nitrat hoá v.v...

d. Dị dưỡng amin

Các vi sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng này không có khả năng tự tổng hợp các axit amin cho cơ thể mà phải hấp thụ các axit amin có sẵn từ môi trường. Thuộc nhóm này gồm có các vi khuẩn ký sinh và các vi khuẩn gây thối hủu khí. Chúng có khả năng tiết ra men proteaza để phân huỷ phân tử protein thành các axit amin rồi hấp thụ vào tế bào.

Dựa vào nguồn năng lượng

Dựa vào nguồn năng lượng người ta còn chia các kiểu dinh dưỡng của vi sinh vật ra các loại sau :

+ Dinh dưỡng quang năng (quang dưỡng)

Vi sinh vật thuộc nhóm này có khả năng sử dụng trực tiếp năng lượng của ánh sáng mặt trời. Thuộc nhóm này lại có 2 nhóm nhỏ :

a. Dinh dưỡng quang năng vô cơ : còn gọi là tự dưỡng quang năng. Vi sinh vật thuộc nhóm này có khả năng dùng các chất vô cơ ngoại bào để làm nguồn cung cấp electron cho quá trình tạo năng lượng của tế bào. Thuộc nhóm này bao gồm các loại vi khuẩn lưu huỳnh. Chúng sử dụng các hợp chất lưu huỳnh làm nguồn cung cấp electron trong các phản ứng tạo thành ATP của cơ thể.

b. Dinh dưỡng quang năng hữu cơ :

Vi sinh vật thuộc nhóm này có khả năng dùng các chất hữu cơ làm nguồn cung cấp electron cho quá trình hình thành ATP của tế bào.

Vì sinh vật thuộc cả 2 nhóm trên đều có sắc tố quang hợp, chính nhờ sắc tố quang hợp mà vi sinh vật thuộc nhóm này có khả năng hấp thu năng lượng mặt trời, chuyển hoá thành năng lượng hoá học tích lũy trong phân tử ATP. Sắc tố quang hợp ở vi khuẩn không phải clorofil như ở cây xanh mà bao gồm nhiều loại khác nhau như Bacterilchlorofil a, b, c, d ... mỗi loại có một phổ hấp thụ ánh sáng riêng.

+ Dinh dưỡng hoá năng (hoá dưỡng)

Vì sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng hoá năng có khả năng sử dụng năng lượng chứa trong các hợp chất hoá học có trong môi trường để tạo thành nguồn năng lượng của bản thân.

c. Dinh dưỡng hoá năng vô cơ

Vì sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng hoá năng vô cơ còn gọi là nhóm tự dưỡng hoá năng.

Nó có khả năng sử dụng năng lượng sinh ra trong quá trình ôxy hoá một chất vô cơ nào đó để đồng hóa CO₂ trong không khí tạo thành các chất hữu cơ của tế bào. Trong trường hợp này chất cho eletron là chất vô cơ, chất nhận eletron là oxy hoặc một chất vô cơ khác.

Trong số các vi khuẩn háo khí thuộc nhóm này có Nitrosomonas, Nitrobacter, Thiobacillus ..., vi khuẩn kỵ khí gồm có : Thiobacillus denitrificant, Micrococcus denitroficans ...

d. Dinh dưỡng hoá năng hữu cơ

Vì sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng này còn gọi là nhóm dị dưỡng hoá năng. Chúng sử dụng hợp chất hữu cơ trong môi trường làm cơ chất oxy hoá sinh năng lượng. Trong trường hợp này, chất cho eletron là chất hữu cơ. Chất nhận eletron oả những vi sinh vật háo khí là oxy, ở những vi sinh vật kỵ khí là chất hữu cơ hoặc vô cơ. Ở trường hợp chất nhận eletron là chất hữu cơ người ta thường gọi là quá trình lên men. Trường hợp chất nhận eletron là chất vô cơ người ta mới chỉ phát hiện ở 2 loại vi khuẩn : vi khuẩn phản natri hoá, chất nhận điện tử là NO₃⁻, vi khuẩn phản sunfat hoá chất nhận điện tử là SO₄²⁻. Hai trường hợp này còn gọi là hô hấp nitrat và hô hấp sunfat.

Bảng 2.10. Các kiểu dinh dưỡng ở vi sinh vật

Kiểu dinh dưỡng	Nguồn năng lượng	Nguồn cacbon chủ yếu	Ví dụ
1. Quang tự dưỡng	Ánh sáng	CO ₂	Tảo, các vi khuẩn quang hợp
2. Quang dị dưỡng	Ánh sáng	Chất hữu cơ	Vi khuẩn tía, vi khuẩn lục
3. Hoá tự dưỡng	Chất vô cơ (NH ₄ ⁺ , NO ₂ ⁻ , H ₂ , H ₂ S, Fe ²⁺ ..)	CO ₂	Vi khuẩn nitrat hoá, vi khuẩn ôxi hoá lưu huỳnh, vi khuẩn hiđrô ...
4. Hoá dị dưỡng	Chất hữu cơ	Chất hữu cơ	Hầu hết vi sinh vật

2.1.4. Cơ chế vận chuyển thức ăn vào tế bào vi sinh vật

Trong quá trình sống vi sinh vật thường xuyên hấp thụ các chất dinh dưỡng từ môi trường và thải các sản phẩm trao đổi chất vào môi trường. Màng tế bào chất chính là nơi điều chỉnh sự ra vào của các chất khác nhau. Có hai cơ chế chính trong việc vận chuyển các chất qua màng.

1. Khuếch tán đơn giản:

Các chất đi qua màng theo cơ chế này dựa trên sự chênh lệch nồng độ hoặc sự chênh lệch điện thế giữa hai phía của màng. Sự khuếch tán này không cần đến năng lượng của tế bào. Chỉ có một số chất đi qua màng theo cơ chế này: nước, O₂, CO₂, axit béo và một số chất tan trong lipid.

2. Khuếch tán xúc tiến: Tức là vận chuyển nhờ Pecmeaza:

Theo cơ chế vận chuyển này, các chất đi qua màng phải được liên kết với phân tử vận chuyển gọi là Pecmeaza có bản chất protein. Có hai loại vận chuyển nhờ Pecmeaza:

a. Vận chuyển thụ động:

Kiểu vận chuyển này không tiêu tốn năng lượng của tế bào. Các chất hoà tan (S) liên kết thuận nghịch với phân tử Pecmeaza (P) thành phức hợp “chất hoà tan - Pecmeaza”, PS phức hợp này đi qua màng nhờ sự chênh lệch nồng độ của chất hoà tan đó. Kiểu vận chuyển này còn gọi là vận chuyển "xuôi dòng". Trong sự vận chuyển thụ động P được di động thuận nghịch hoặc ở dạng đơn độc (P) hoặc ở dạng phức hợp với S (PS), hướng di chuyển của S phụ thuộc vào nồng độ của S ở hai phía của màng.

b. Vận chuyển chủ động

Kiểu vận chuyển này cần có năng lượng của tế bào, nó diễn ra theo kiểu "ngược dòng"; Năng lượng tiêu thụ do ATP hình thành trong meazoxom hoặc tế bào chất cung cấp năng lượng để chuyển hoá nó. Một Pecmeaza có thể làm cả hai nhiệm vụ vận chuyển chủ động và vận chuyển thụ động, tùy theo sự có mặt hay vắng mặt của ATP. Trong sự vận chuyển chủ động có ATP cung cấp năng lượng P bị chuyển thành dạng Pi bất hoạt ở phía bên trong màng có ái lực rất thấp đối với S. Sau khi S được tách khỏi phức hợp PS và được chuyển vào tế bào chất Pi lại được chuyển thành P hoạt động ở phía ngoài của màng nhờ một phản ứng cung cấp năng lượng nào đó.

Phía trongMàngPhía ngoàiVận chuyển thụ độngVận chuyển chủ độngP: PecmeazaS: Chất được vận chuyểnPv: Phosphat vô cơPi: Hoá chất lạiSS

SP = PP PO

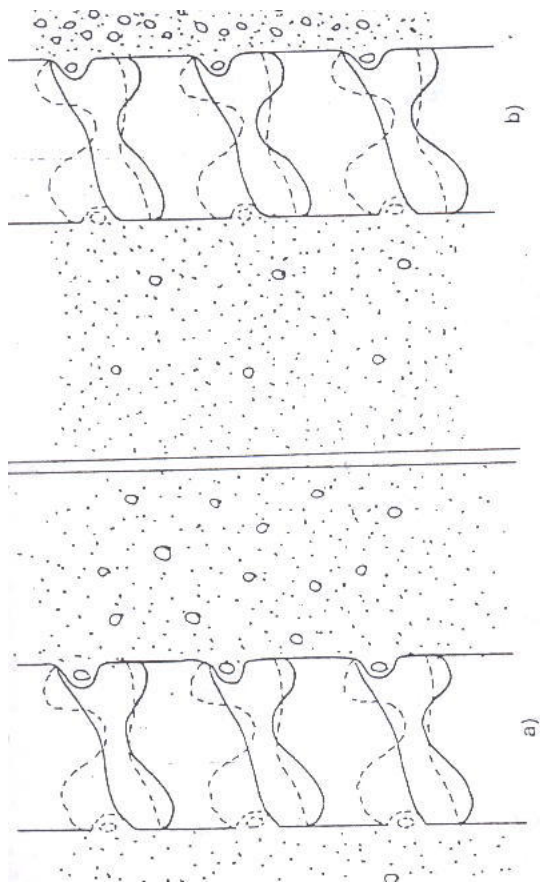
PSPS

ATPPip

Pv + ADP

S

Trong tế bào



Hình (a)Màng

Ngoài tế bào

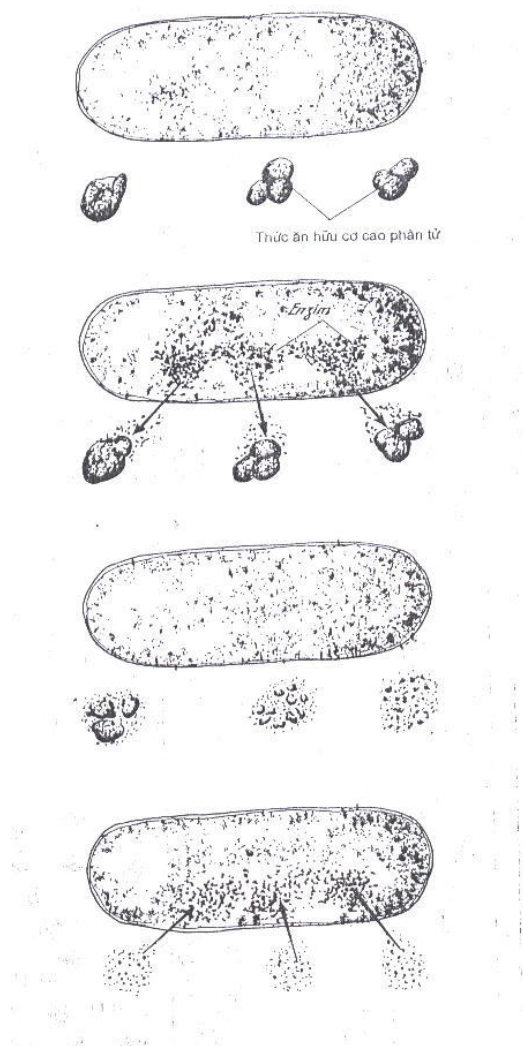
Trong tế bào

Hình (b)Màng

Ngoài tế bào

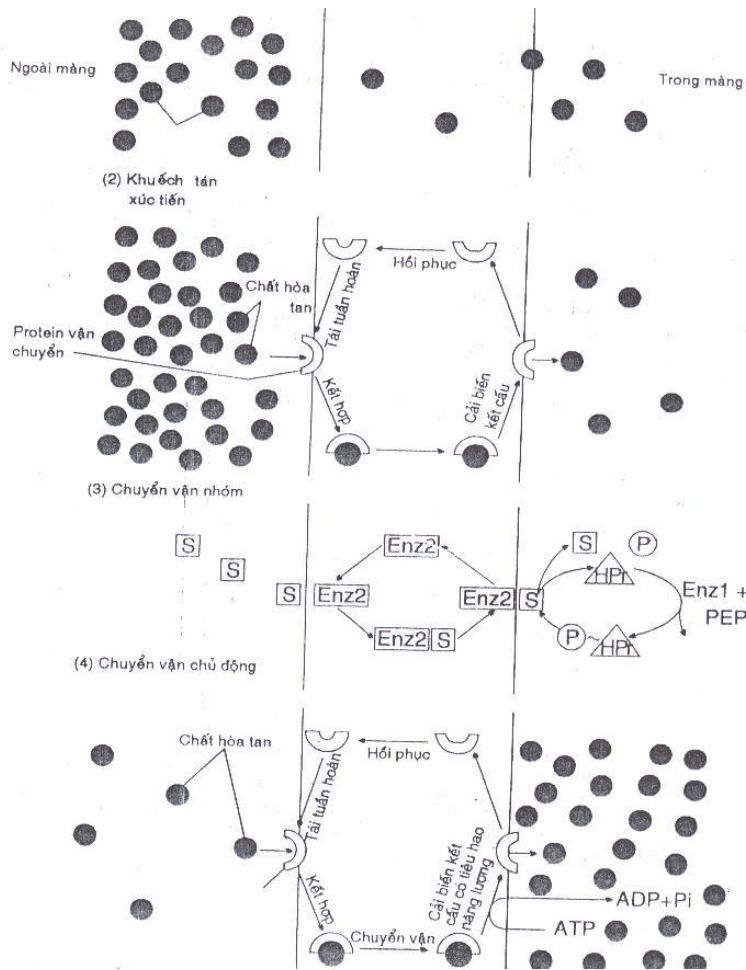
Hình 2.1. Quá trình khuếch tán xúc tiến

Chú thích: Nồng độ chất cần vận chuyển ngoài tế bào ở hình (a) nhỏ hơn nhiều so với ở hình (b), nhưng do số lượng protein vận chuyển tương đối ổn định do đó hiệu suất vận chuyển như nhau.



Hình 2.2. Vi khuẩn sản sinh enzym phân giải các thức ăn hữu cơ cao phân tử trước khi hấp thụ

Khuếch tán đơn giản Trên màng



Hình 2.3. Bốn kiểu vận chuyển chất dinh dưỡng vào tế bào

Chú thích về kiểu vận nhóm: khác với kiểu vận chuyển chủ động ở chỗ chất hoà tan trước và sau quá trình chuyển vận có biến đổi kết cấu (HPr - heat - stable carrier protein - protein vận chuyển bền nhiệt, PEP = photphoenolpiruvat, PA - axit piruvic)

TRAO ĐỔI CHẤT VÀ TRAΟ ĐỔI NĂNG LƯỢNG CỦA VI SINH VẬT

Trao đổi chất là quá trình hấp thu thức ăn từ môi trường vào cơ thể, chế biến nó thành các chất của cơ thể và thải các sản phẩm cuối cùng ra môi trường.

Quá trình hấp thu các chất dinh dưỡng gọi là quá trình dinh dưỡng. Quá trình chế biến các chất dinh dưỡng thành các chất của cơ thể gọi là quá trình đồng hoá. Quá trình phân huỷ các thành phần của cơ thể gọi là quá trình dị hoá. Quá trình oxy hoá các chất dinh dưỡng để tạo ra năng lượng được gọi là quá trình trao đổi năng lượng. Vì vi sinh vật không có mô dự trữ nên chúng phải oxy hoá trực tiếp các chất dinh dưỡng để tạo ra năng lượng.

Trao đổi chất và trao đổi năng lượng liên quan chặt chẽ với nhau. Cơ thể vi sinh vật muốn tạo ra năng lượng để hoạt động sống phải dựa vào nguồn dinh dưỡng được hấp thu do quá trình trao đổi chất. Quá trình trao đổi chất thực hiện được là nhờ vào năng lượng của tế bào.

Hai quá trình này có những đặc trưng riêng biệt tùy theo đặc điểm sống của từng nhóm vi sinh vật.

- Nhóm sinh dưỡng quang năng có khả năng sử dụng trực tiếp năng lượng của ánh sáng mặt trời để đồng hoá CO_2 tạo thành chất hữu cơ của cơ thể.

- Nhóm dinh dưỡng hoá năng vô cơ sử dụng năng lượng sinh ra trong quá trình oxy hoá một chất vô cơ nào đó để đồng hoá CO_2 trong không khí.

- Nhóm dinh dưỡng hoá năng hữu cơ sử dụng chất hữu cơ làm chất oxy hoá sinh năng lượng.

Trong nhóm này, nhóm háo khí có quá trình oxy hoá năng lượng kèm theo việc liên kết với oxy của không khí.

Nguyên liệu xây dựng Sinh khối Nguyên liệu năng lượng Oxy không khí Các chất dinh dưỡng Hữu cơ + H_2O H_2O CO_2

Nhóm kỵ khí có quá trình oxy hoá sinh năng lượng không kèm theo việc liên kết với oxy của không khí (chất nhận điện tử không phải là oxy mà là một chất hữu cơ hoặc một chất vô cơ).

Trường hợp chất nhận điện tử là chất hữu cơ.

Nguyên liệu xây dựng Sinh khối Nguyên liệu năng lượng Các chất dinh dưỡng Hữu cơ + H_2O Các sản phẩm trao đổi chất Sinh khối

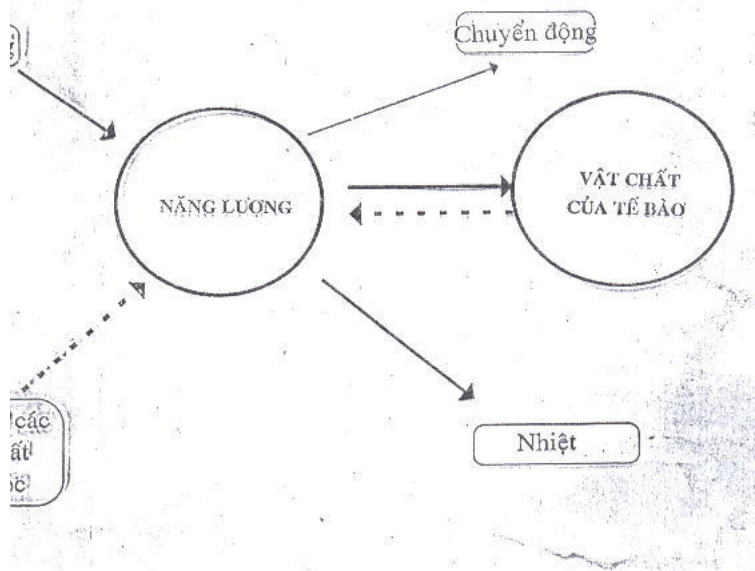
NO_3^- N_2 SO_4^{2-} H_2S H^+ Hấp Nitrat Hấp Sulphat Chất cho Hydro Trường hợp chất nhận điện tử là chất vô cơ.

Năng lượng giải phóng ra từ các phản ứng oxy hoá trong các quá trình trên được giữ lại trong một số hợp chất giàu năng lượng của tế bào, phổ biến nhất là ATP. Năng lượng trong phân tử này được tích lũy ở liên kết cao năng giữa P và O (Bởi vậy còn gọi là quá trình photphoryl hoá). Khi cần đến năng lượng, ATP được oxy hoá để giải phóng năng lượng.

Như trên là những khái niệm cơ bản nhất về các quá trình trao đổi chất và trao đổi năng lượng ở vi sinh vật. Để có được hai quá trình này phải có quá trình dinh dưỡng. Tất cả các quá trình trên là cơ sở vi sinh vật học của các quá trình chuyển hoá vật chất trong các môi trường tự nhiên. Nhờ sự chuyển hoá vật chất mà sự cân bằng vật chất được giữ vững. Từ đó có được sự cân bằng sinh thái trong môi trường tự nhiên.

Dị hoá Đồng hoá

Ánh sáng Chuyển động



Oxy hoá các hợp chất hoá học

Hình 2.4. Biến dưỡng năng lượng ở vi khuẩn

Bảng 2.11. Các dạng chuyển hoá chính

Chất cho Hydro	Chất nhận Hydro		
	Oxy	Chất vô cơ	Hợp chất hữu cơ
Chất vô cơ Hoá dưỡng vô cơ	(Hô hấp) Nhóm 1 Hoá dưỡng vô cơ hiếu khí	(Hô hấp hiếu khí) Nhóm 2 Hoá dưỡng vô cơ yếm khí	(Lên men)
Chất hữu cơ Hoá dưỡng hữu cơ	Nhóm 3 Hoá dưỡng hữu cơ hiếu khí	Nhóm 4 Hoá dưỡng hữu cơ yếm khí	Nhóm 5 Có khả năng lên men

Bảng 2.12. Các dạng dinh dưỡng chính của vi sinh vật

--	--	--

CÁC DẠNG DINH DƯỠNG CHÍNH	NGUỒN NĂNG LƯỢNG HYDRO/ ĐIỆN TỬ, CACBON	VI SINH VẬT - ĐẠI DIỆN
Vi sinh vật tự dưỡng, quang hợp vô cơ	Năng lượng ánh sáng Chất vô cơ cho hydro/ điện tử Nguồn cacbon là CO ₂	Tảo Vi khuẩn tía và lục sử dụng SVi khuẩn lam
Vi sinh vật dị dưỡng, quang hợp hữu cơ	Năng lượng ánh sáng Chất hữu cơ cho hydro/ điện tử Nguồn cacbon hữu cơ (CO ₂ có thể được sử dụng)	Vi khuẩn tía không sử dụng được lưu huỳnh Vi khuẩn lục không sử dụng được lưu huỳnh
Vi sinh vật tự dưỡng, hoá dưỡng vô cơ	Nguồn năng lượng hoá học (vô cơ) Chất vô cơ cho hydro/ điện tử Nguồn cacbon là CO ₂	Vi khuẩn oxy hoá lưu huỳnh Vi khuẩn oxy hoá hydro Vi khuẩn nitrit hoá Vi khuẩn sắt
Vi sinh vật tự dưỡng, hoá dưỡng hữu cơ	Nguồn năng lượng hoá học (hữu cơ) Chất hữu cơ cho hydro/ điện tử Nguồn cacbon hữu cơ	Nguyên sinh động vật Mycètes Đa số các vi sinh vật không quang hợp

ẢNH HƯỞNG CÁC YẾU TỐ BÊN NGOÀI ĐẾN HOẠT ĐỘNG CỦA VI SINH VẬT

Trong quá trình phát triển và sinh sản vi sinh vật chịu tác động của nhiều yếu tố bên ngoài. Ta có thể chia sự tác động đó như sau:

- Ảnh hưởng các yếu tố lý học
- Ảnh hưởng các yếu tố hoá học
- Ảnh hưởng các yếu tố sinh học

Ảnh hưởng của những yếu tố lý học

Ảnh hưởng của nhiệt độ

Để phát triển mỗi một sinh vật phát triển trong một khoảng nhiệt độ nhất định. Ngoài khoảng nhiệt độ đó ra vi sinh vật sẽ bị hạn chế sự phát triển. Trong nhiều tài liệu cho thấy rằng nhiều vi sinh vật có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ dài -180 1400C. Tùy theo mức độ chịu nhiệt của chúng mà người ta có một số khái niệm như sau:

- Nhiệt độ tối ưu: Là nhiệt độ ở đó vi sinh vật phát triển thuận lợi nhất.
- Nhiệt độ cao nhất: Là mức độ nhiệt độ giới hạn tối đa. Ở đó vi sinh vật vẫn phát triển nhưng hết sức chậm và yếu. Nếu quá giới hạn đó thì vi sinh vật sẽ bị tiêu diệt.
- Nhiệt độ thấp nhất: là mức độ nhiệt độ thấp mà vi sinh vật vẫn tồn tại, phát triển rất yếu. Nếu quá mức độ đó vi sinh vật sẽ bị tiêu diệt. Phần lớn vi sinh vật gây bệnh phát triển tốt ở nhiệt độ 35 - 370C. Một số nấm men và nấm mốc nuôi cấy trong phòng thí nghiệm phát triển tốt ở 26 - 320C.

Nhiệt độ thường gây cho vi sinh vật những chiều hướng sau. Đối với nhiệt độ thấp thường không gây chết vi sinh vật ngay mà nó tác động lên khả năng chuyển hoá các hợp chất, làm ức chế hoạt động của các hệ enzym, làm thay đổi khả năng trao đổi chất của chúng, vì thế làm vi sinh vật mất khả năng phát triển và sinh sản. Nhiều trường hợp vi sinh vật sẽ bị chết. Khả năng gây chết của chúng hết sức từ từ chứ không xảy ra đột

ngọt như ở nhiệt độ cao. Dựa vào đặc tính này mà người ta tiến hành cất giữ thực phẩm ở nhiệt độ thấp, bảo quản giống vi sinh vật ở nhiệt độ thấp.

Đối với nhiệt độ cao. Nhiệt độ cao thường gây chết vi sinh vật một cách nhanh chóng. Đa số vi sinh vật bị chết ở 60 - 800C. Một số khá chết ở nhiệt độ cao hơn. Đặc biệt bào tử có khả năng tồn tại ở nhiệt độ > 1000C. Nhiệt độ cao thường gây biến tính protit, làm hệ enzym lập tức không hoạt động được, vi sinh vật dễ dàng bị tiêu diệt.

- Lợi dụng đặc điểm này, người ta tiến hành những phương pháp sấy khô thực phẩm, phương pháp thanh trùng. Như thanh trùng Pasteur, tiệt trùng Tindal, v.v...

Theo quan hệ của vi sinh vật đối với nhiệt độ người ta chia ra làm những nhóm khác nhau như sau:

Nhóm ưa lạnh: Bao gồm những vi sinh vật có khả năng phát triển ở nhiệt độ lạnh. Đa số những vi sinh vật đã phát triển trong điều kiện lạnh, nhờ quá trình tiến hoá của chúng mà các vi sinh vật quen với điều kiện lạnh rồi. Thí dụ như vi khuẩn phát sáng, vi khuẩn sống trong đầm hồ lạnh. Nhiệt độ tối ưu cho chúng phát triển là 15 -200C. Nhiệt độ cao nhất cho chúng tồn tại là 30 - 350C, và nhiệt độ thấp nhất của chúng là 00C có khi là -60C. Một số nấm mốc có khả năng tồn tại ở -110C.

Nhóm vi sinh vật ưa ấm: Phát triển ở nhiệt độ trung bình. Thuộc nhóm này thường thấy những vi khuẩn gây bẩn, vi khuẩn gây bệnh. Nhiệt độ tối ưu cho chúng phát triển là 25 - 360C. Tối thiểu là 100C và tối đa là 43 - 500C.

Nhóm vi sinh vật ưa nóng: Thường phát triển ở nhiệt độ tương đối cao. Nhiệt độ tối ưu cho chúng phát triển là 50 - 600C. Tối thiểu là 350C và tối đa là 800C. Thuộc nhóm này gồm có những vi sinh vật phát triển ở đường tiêu hoá động vật, phát triển trên bề mặt đất luôn có ánh sáng mặt trời, trong nguồn nước luôn luôn nóng.

Bảng 2.13. Phân loại vi sinh vật theo ảnh hưởng của nhiệt độ

Số TT	Nhóm vi sinh vật	Nhiệt độ tối thiểu	Nhiệt độ tối ưu	Nhiệt độ tối đa
1	Ưa nóng	40 450C	55 750C	60 700C
2	Ưa ấm	5 15	30 40	40 47
3	Ưa lạnh			
3.1	Ưa lạnh bắt buộc	(-5) 5	12 15	15 20
3.2	Ưa lạnh không bắt buộc	(-5) 5	25 30	30 35

Ảnh hưởng của độ ẩm

Độ ẩm không khí, độ ẩm vật liệu hay độ ẩm môi trường cũng ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển và sinh sản của vi sinh vật. Đa số vi sinh vật phát triển tốt ở độ ẩm không khí 80% và độ ẩm môi trường > 20%. Nếu hạ thấp độ ẩm sẽ làm rối loạn quá trình sinh lý bình thường của vi sinh vật. Độ ẩm là một trong những yếu tố làm cho vi sinh vật tiếp nhận thức ăn dễ dàng. Nhờ có độ ẩm tốt mà các chất dinh dưỡng dễ thâm nhập vào cơ thể, các hệ enzym thuỷ phân mới hoạt động được. Nếu độ ẩm quá thấp xảy ra hiện tượng thay đổi trạng thái của nguyên sinh chất. Từ thay đổi trạng thái như vậy dẫn tới vi sinh vật không phát triển được.

Lợi dụng đặc điểm này người ta tiến hành những phương pháp sấy khô, phơi khô để làm giảm độ ẩm nguyên liệu. Làm khô không khí để hạn chế sự phát triển của vi sinh vật hay để những vật liệu cần bảo quản ở những điều kiện khô ráo cho vi sinh vật ít phá hoại.

Ảnh hưởng của ánh sáng

Ảnh hưởng mặt trời chiếu rọi xuống đất, những vi sinh vật phát triển trên bề mặt đất đều bị tiêu diệt, trừ những vi khuẩn tự dưỡng quang năng. Thường thường chúng bị tiêu diệt rất nhanh trong vài phút đến 1 giờ. Các vi sinh vật gây bệnh thường nhạy cảm với ánh sáng hơn những vi sinh vật gây thối.

Tác dụng chiếu sáng phụ thuộc vào bước sóng của tia sáng. Bước sóng càng ngắn, khả năng tác dụng quang hoá càng mạnh càng làm vi sinh vật dễ bị tiêu diệt.

Lợi dụng đặc tính này mà người ta thường phơi nắng các dụng cụ cần bảo quản, một mặt làm giảm độ ẩm, một mặt tiêu diệt những vi sinh vật trên bề mặt. Hai nữa, nhiều người tắm nắng, một trong những yêu cầu là làm hệ vi sinh vật trên da bị tiêu diệt.

Ảnh hưởng tia tử ngoại

Tia tử ngoại có khả năng tiêu diệt vi sinh vật rất nhanh. Chính vì thế mà ngày nay người ta sử dụng tia tử ngoại như một trong những phương thức tiệt trùng trong nghiên cứu hay trong sản xuất.

Ảnh hưởng phóng xạ, Røghen

Tia phóng xạ và tia røghen trong khi chiếu xạ mặc dù trong thời gian rất ngắn cũng đủ làm ức chế và tiêu diệt vi sinh vật. Mặt khác cũng có nhiều vi sinh vật có khả năng bền vững với điều kiện chiếu xạ này.

Ảnh hưởng của chất hoà tan (áp suất)

Nồng độ hoà tan thường gây áp suất thẩm thấu lên màng tế bào vi sinh vật. Ở đây thường xảy ra hai trường hợp.

Trường hợp thứ nhất: Trường hợp chất hoà tan trong môi trường quá cao. Trong tế bào vi sinh vật xảy ra hiện tượng, tách nước ra ngoài môi trường. Vì thế tế bào xảy ra hiện tượng mất nước hay là teo nguyên sinh chất (hay co nguyên sinh chất). Vì thế làm thay đổi khả năng trao đổi chất của tế bào, làm tế bào dễ bị chết.

Trường hợp thứ hai: Tế bào vi sinh vật có khả năng thích ứng với điều kiện áp suất thẩm thấu ở môi trường thay đổi. Trong điều kiện đó xuất hiện sự tích lũy trong dịch bào những muối khoáng hoặc là những chất hoà tan làm điều hòa áp suất ở trong và ở ngoài tế bào. Đây là hiện tượng tự điều chỉnh áp suất của vi sinh vật.

Ứng dụng hiện tượng này người ta thường tiến hành muối chua rau quả và muối thịt hoặc ngâm đường.

Đa số vi sinh vật gây thối bị ức chế ở nồng độ muối 5 - 10% (thí dụ *Proteus vulgaris*, *Bac. Mesentericus*). Vì thế nồng độ muối 5 - 10% có khả năng bảo quản một số sản phẩm thực phẩm. Trong thực tế người ta dùng nhiều hơn. Thịt thường cho 30%, dưa chuột 12 - 15%, cá 20%, còn đối với nồng độ đường thì cao hơn, có thể lên 40%. Một số vi sinh vật khác có khả năng tồn tại ở nồng độ 80%.

Ảnh hưởng của các yếu tố hoá học

Các chất hoá học tác dụng lên vi sinh vật khác nhau hoàn toàn khác nhau. Ta xét một số ảnh hưởng cơ bản sau:

Ảnh hưởng của nồng độ ion hydro (pH)

Phản ứng pH môi trường tác động trực tiếp lên vi sinh vật. Ion hydro nằm trong thành phần môi trường làm thay đổi trạng thái điện tích của thành tế bào. Tùy theo nồng độ của chúng mà làm tăng hoặc giảm khả năng

thẩm thấu của tế bào đối với những ion nhất định. Mặt khác chúng cũng làm ức chế phần nào các enzym có mặt trên thành tế bào.

Sự phát triển của vi sinh vật chỉ có thể rất nghiêm ngặt ở axit hay kiềm. Đối với vi khuẩn thuận lợi nhất là chúng phát triển trong môi trường trung tính hoặc kiềm yếu. Đối với nấm men và nấm mốc thì phát triển ở môi trường axit yếu.

Nếu nồng độ hydro trong dung dịch vượt quá mức độ bình thường đối với vi sinh vật nào đó thì sự sống bị ức chế. Thí dụ như trong quá trình làm dưa chua, độ axit dần dần tăng lên làm tiêu diệt những vi khuẩn gây thối, sau đó những vi khuẩn lactic. Sự thay đổi pH môi trường có thể gây ra thay đổi kiểu lên men hay đặc tính lên men.

Trong điều kiện phòng thí nghiệm phần lớn chúng ta sử dụng những môi trường có pH đối với vi khuẩn 7 - 7,6; đối với nấm men và nấm mốc 3,0 - 6,0.

Bảng 2.13. Ảnh hưởng pH đối với một số vi sinh vật

LOÀI VI SINH VẬT	pH môi trường		
	Độ axit tối thiểu	Tối ưu	Kiềm tối thiểu
Saccharomyces cerevisiae	4	5,8	6,8
Streptococcus lactic	4,0 - 5,1		7,9
Lactobacterinus casei	3,0 - 3,9	-	7,1
E. coli	4,4	6,5 - 7,8	7,8
Clostr.amylobacter	5,7	6,9 - 7,3	
Vi khuẩn gây thối			
Bac. Mesentericeus	5,8	6,8	8,5
Clostr. Putrificum	4,2	7,5 - 8,5	9,4
Vi khuẩn cố định đạm			
Azotobacter chroococcum	5,6	6,5 - 7,8	8,8 - 9,2
Vi khuẩn nitrat			
Nitrosomonas	3,9	7,7 - 7,9	9,7

Nitrosobacter	3,9	6,8 - 7,3	13,0
Nấm mốc	1,2	1,7 - 7,7	9,2 - 11,1

Ứng dụng ảnh hưởng của pH: Hiện nay người ta ứng dụng ảnh hưởng này trong sản xuất cũng như trong chọn giống vi sinh vật chủ yếu tạo điều kiện cho vi sinh vật có lợi phát triển và ức chế sự phát triển của vi sinh vật có hại. Thí dụ như trong đời sống người ta thường hay ngâm dấm, dầm dấm. Đó là một trong những cách bảo quản.

Ảnh hưởng của chất độc, các chất diệt khuẩn

Nhiều chất độc hoá học có khả năng tiêu diệt vi sinh vật. Khả năng tác dụng này có một ý nghĩa rất lớn trong kỹ thuật vi sinh vật học. Cơ chế tác dụng của chúng khác nhau, nói chung không đồng nhất, nó phụ thuộc vào bản chất hoá học của chất diệt vi sinh vật, phụ thuộc vào từng loài vi sinh vật.

Thí dụ: Este, alcol, dung dịch kiềm yếu tác dụng làm tan chất lipoit có trong thành phần tế bào. Muối kim loại nặng, kẽm, axit, phocmanlin làm đông tụ protein, làm thay đổi thành phần bào tương của vi sinh vật.

Axit nitric, clo, bột clo, permanganat kali, các chất hữu cơ oxy hoá mạnh có khả năng phá huỷ hẳn tế bào vi sinh vật, còn các chất khác như glycerin, nồng độ đường và nồng độ muối cao gây áp suất thẩm thấu.

Các chất được ứng dụng trong kỹ thuật để tiêu diệt vi sinh vật còn gọi là chất diệt khuẩn. Hoạt tính diệt khuẩn của các chất hoá học phụ thuộc trước tiên vào cấu tạo, nồng độ chất, thời gian tác dụng của nó đối với vi sinh vật, loại vi sinh vật, thành phần hoá lý của môi trường và nhiệt độ của môi trường đó.

Ứng dụng: Các chất diệt khuẩn được ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm phải đảm bảo những yêu cầu cơ bản sau:

1. Tác dụng diệt khuẩn mạnh ở nồng độ nhỏ.
2. Có khả năng tan trong nước
3. Chất diệt khuẩn không được có mùi, vị và không gây độc hại cho người.
4. Bền vững trong bất kỳ điều kiện bảo quản nào.
5. Không gây tác dụng phá huỷ dụng cụ chứa cũng như thiết bị kỹ thuật.

Đối với vật dụng diệt khuẩn ẩm thì dùng chất hoá học ở dạng dung dịch, huyền phù hay bột còn chất khí thì dùng dạng khí hoặc dạng hơi.

Các chất hóa học thường được ứng dụng để diệt khuẩn như sau:

*** Kiềm và muối**

- NaOH 0,1% với pH = 10, trong nồng độ này vi sinh vật bị tiêu diệt trong 1 - 2 phút ở nhiệt độ 400C (không được dùng với thiết bị làm bằng nhôm).

- NaCO₃ 1% hay 0,5% thường sử dụng ở nhiệt độ 550C.

*** Halogen và những dẫn xuất**

- Clor: Đây là chất diệt khuẩn rất mạnh. Nó có thể sử dụng ở dạng nước hay dạng khí. Tác dụng của chúng lên tế bào dinh dưỡng, lên bào tử không đồng đều. Nồng độ rất nhỏ cũng đủ tiêu diệt vi sinh vật.

Phản ứng Clor với nước theo cơ chế sau:



Ngoài ClO_2 ra tác dụng diệt vi sinh vật còn có O và HCl



Khả năng tác dụng của Clor lên trực khuẩn đường ruột xem bảng sau:

Bảng 2.14. Khả năng tác dụng của Clo lên vi sinh vật

Thời gian tương tác (phút)	Lượng vi sinh vật trong 1ml nước phụ thuộc nồng độ Clo mg/l			
	0,5	1,0	2,0	4,0
0	1.800.000	1.800.000	1.800.000	1.800.000
1	13.900	1.940	350	285
2	6.000	970	24	8
5	4.500	640	15	5

- Bột Clo CaOCl_2 là dạng hypoclorit được ứng dụng nhiều trong công nghiệp. Thường thường sử dụng nồng độ 2%.

- Antifocmin thường được ứng dụng nhiều trong sản xuất bia. Antifocmin được điều chế từ ba thành phần bột Clor, hydroxit canxi, hydroxit natri.

* Hợp chất kim loại nặng

Thường sử dụng nhiều là thủy ngân, đồng và bạc. Chúng ở dạng các hợp chất hữu cơ hay vô cơ. Các chất này chủ yếu là làm đông tụ protein của vi sinh vật.

Clorua thủy ngân. Thường sử dụng ở trạng thái dung dịch ở nồng độ 1/10000. Nếu nồng độ 1/1000 sẽ tiêu diệt những tế bào dinh dưỡng trong vòng 1 - 30 phút. Và nồng độ 1/500 tiêu diệt bào tử vi sinh vật.

Các hợp chất bạc. Thường sử dụng nhiều dạng khác nhau. Trong y học người ta sử dụng nitrat bạc. Trong công nghiệp thực phẩm người ta sử dụng một số hợp chất khác. Cơ chế tác dụng chủ yếu là do bạc tác dụng lên tế bào ở nồng độ 1:10.000.000.000.

* Phenol và những dẫn xuất của chúng

Thường sử dụng rất nhiều những đầu xuất khác nhau của phenol.

A. Cacbonlic ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$). Thường sử dụng với độ pha loãng 1:100. Ở nồng độ này phần lớn những tế bào dinh dưỡng bị tiêu diệt sau 5 - 10 phút. Trong nồng độ dung dịch 2 0 5% tiêu diệt nhiều tế bào gây bệnh.

* Các chất khí

Thường sử dụng nhiều chất khí khác nhau. Rất nhiều chất khí có khả năng tiêu diệt vi sinh vật.

Focmalin. Cơ chế tác dụng của chúng là lên nhóm amin của protit vi sinh vật dẫn tới làm biến tính chúng.

Nồng độ phocmalin 5% tiêu diệt bào tử sau 30 phút - 2% sau 60 phút, 1% sau 2 giờ. Để diệt khuẩn thường sử dụng dung dịch 2% được điều chế từ dung dịch 40% focmalin.

Ngoài ra người ta còn sử dụng SO₂ và một số chất khác trong công nghiệp nước uống.

Các sản phẩm trao đổi chất

Trong quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật cũng như nhiều sinh vật khác có hai quá trình đồng hoá và dị hoá. Hai quá trình này luôn luôn song song tồn tại. Do quá trình dị hoá mà nhiều sản phẩm trao đổi chất của chúng có tác dụng ngược lại quá trình đồng hoá.

Các sản phẩm trao đổi chất thường có tác dụng rất độc hại đối với vi sinh vật. Bình thường các vi sinh vật lấy các chất dinh dưỡng trong môi trường đồng thời thải các chất cặn bã ra xung quanh. Các chất thải này một mặt gây ức chế các quá trình hấp thụ thức ăn của vi sinh vật. Các sản phẩm trao đổi chất bao bọc xung quanh tế bào tạo thành một lớp làm cho các chất dinh dưỡng không chui vào trong tế bào được. Mặt khác chính các sản phẩm trao đổi chất này gây tác động ức chế sinh tổng hợp các hệ enzym và làm ức chế hoạt động của enzym.

Hiểu được tác dụng này người ta tiến hành nuôi vi sinh vật để thu sinh khối phải cải tiến nhiều cách để làm sản phẩm trao đổi chất ít gây độc hại đối với vi sinh vật. Các biện pháp đó như sau:

1. Khuấy trộn là một trong những phương pháp làm các thành phần trao đổi chất không bám xung quanh tế bào, không ức chế hoạt động của vi sinh vật.
2. Thổi khí cũng có tác dụng tương tự, đồng thời đẩy nhanh các chất khí độc hại ra khỏi môi trường.
3. Tiến hành nuôi cấy liên tục làm thay đổi thành phần môi trường nuôi cấy, làm giảm nồng độ các chất thải của vi sinh vật trong môi trường.

Ảnh hưởng các yếu tố sinh học

Ngoài tác dụng của các yếu tố bên ngoài, bản thân giữa các vi sinh vật cũng có tác dụng qua lại. Sự tác dụng qua lại này xảy ra muôn hình muôn vẻ. Từ đó tạo ra những mối quan hệ.

Quan hệ cộng sinh

Là hiện tượng trong cùng một môi trường có hai hay nhiều cá thể của hai hay nhiều loài cùng sinh trưởng, cùng phát triển cùng sinh sản mà không gây ảnh hưởng xấu lẫn nhau.

Thí dụ như vi khuẩn và cây họ đậu, thí dụ như nấm men và vi khuẩn Lactic. Vi khuẩn Lactic làm axit hoá môi trường tạo điều kiện thuận lợi cho nấm men phát triển. Nấm men phát triển làm giàu các chất trong môi trường cho vi khuẩn phát triển. Trong các chất đó lưu ý nhất là vitamin và các hợp chất chứa nitơ.

Quan hệ đối kháng

Là hiện tượng mà trong cùng một điều kiện môi trường có một loài vi sinh vật này trong quá trình sinh trưởng, phát triển sẽ lấn át loài khác, làm cho loài kia bị tiêu diệt. Thí dụ như một số vi sinh vật tạo thành chất kháng sinh để tiêu diệt loài khác.

Quan hệ ký sinh

Đây là mối quan hệ giữa hai cơ thể sống, một loài này sống bám vào loài khác. Loài này phát triển lên và sẽ làm loài kia bị tiêu diệt. Thí dụ như virus đối với các vi sinh vật khác (Thực khuẩn thể, virus của động vật và thực vật).

Quá trình sinh trưởng và phát triển

Quá trình sinh trưởng và phát triển là đặc tính của vi sinh vật sống. Cũng như ở các sinh vật khác, vi sinh vật sẽ tăng kích thước tế bào và tăng nhanh khối lượng tế bào chung (Người ta gọi là sinh khối - biomass).

Sinh trưởng và phát triển thường không phải lúc nào cũng diễn ra cùng một lúc, nghĩa là số lượng tế bào không phải lúc nào cũng tỷ lệ thuận với sinh khối tạo thành. Điều dễ nhận thấy nhất là trong môi trường nghèo chất dinh dưỡng, tế bào vẫn có khả năng sinh sản để tăng số lượng tế bào nhưng kích thước tế bào này nhỏ hơn rất nhiều trong điều kiện đầy đủ chất dinh dưỡng.

Sự sinh trưởng

Trong điều kiện môi trường nuôi cấy đầy đủ chất dinh dưỡng và trong điều kiện nuôi cấy thích hợp, tế bào vi sinh vật tăng nhanh về kích thước đồng thời sinh khối được tích lũy nhiều.

Có nhiều phương pháp kiểm tra sự sinh trưởng của vi sinh vật trong quá trình nuôi cấy. Những phương pháp đó được trình bày như sau:

- Đo kích thước tế bào non và tế bào trưởng thành.
- Xác định sinh khối tươi và sinh khối khô bằng phương pháp ly tâm và cân xác định trọng lượng.
- Xác định hàm lượng nitơ tổng số hoặc xác định lượng cacbon tổng số.
- Xác định các quá trình trao đổi chất thông qua các cấu tử tham gia quá trình đó như lượng oxy tiêu hao, lượng CO₂ sản sinh ra và các sản phẩm của quá trình lên men.

Sự phát triển

Các vi sinh vật sinh sản bằng phương pháp nhân đôi thường cho lượng sinh khối rất lớn sau một thời gian ngắn. Trong trường hợp sinh sản theo phương pháp này thì trong dịch nuôi cấy sẽ không có tế bào già. Vì rằng tế bào được phân chia thành hai, cứ như vậy tế bào lúc nào cũng ở trạng thái đang phát triển. Ta chỉ phát hiện tế bào già trong trường hợp môi trường thiếu chất dinh dưỡng và tế bào vi sinh vật không có khả năng sinh sản nữa.

Riêng đối với nấm men hiện tượng phát triển tế bào già rất rõ. Nấm men sinh sản bằng cách nảy chồi. Khi chồi non tách khỏi tế bào mẹ để sống độc lập thì nơi tách đó trên tế bào mẹ tạo thành một vết như vết sẹo. Vết sẹo này sẽ không có khả năng tạo ra chồi mới. Cứ như vậy tế bào nấm men mẹ sẽ chuyển thành tế bào già theo thời gian.

Để xác định khả năng phát triển của vi sinh vật hiện nay người ta dùng nhiều phương pháp khác nhau:

- Xác định định số lượng tế bào bằng phương pháp đếm trực tiếp trên kính hiển vi hay gián tiếp trên mặt thạch.
- Đo độ đục của tế bào trong dung dịch nuôi cấy trên cơ sở xây dựng một đồ thị chuẩn của mật độ tế bào.
- Tính thời gian một thế hệ (một lần sinh sản). Thời gian cho một lần phân chia tế bào gọi là thời gian thế hệ G. G được biểu diễn theo công thức sau:

$$G = \frac{t_1 - t_0}{n}$$

Trong đó:

G: Là thời gian phân chia tế bào

t0: Thời gian bắt đầu phân chia

t1: Thời gian kết thúc phân chia

n: số lần phân chia

Số lần phân chia (n) được tính theo công thức sau:

$$n = \frac{\lg B_1 - \lg B_0}{\lg 2}$$

Trong đó:

B1: Số lượng tế bào sau nuôi cấy

B0: Số lượng tế bào bắt đầu nuôi cấy

Số lần phân chia trong 1 giờ (C) hay còn gọi là hằng số tốc độ phân chia được tính như sau:

$$C = \frac{n}{t_1 - t_0} = \frac{\lg B_1 - \lg B_0}{\lg 2(t_1 - t_0)}$$

Mối quan hệ giữa thời gian thế hệ G và hằng số tốc độ C được biểu diễn như sau:

$$G = \frac{1}{C}$$

Thứ nhất là chất dinh dưỡng trong môi trường giảm và dần đến hết. Vì sinh vật không đủ chất dinh dưỡng để duy trì quá trình trao đổi chất. Thứ hai tế bào đã đến giai đoạn già. Thứ ba là sản phẩm trao đổi chất trong môi trường quá nhiều gây ức chế quá trình trao đổi chất của tế bào. Nếu mục đích của quá trình nuôi cấy là thu nhận các sản phẩm trao đổi chất thì nên kết thúc ở pha này.

* Hiện tượng sinh trưởng kép

Hiện tượng này xảy ra khi môi trường chứa nguồn cacbon gồm một hỗn hợp của hai chất hữu cơ khác nhau. Lúc đầu vi sinh vật đồng hoá chất hữu cơ nào chúng thấy thích hợp nhất. Mặt khác sản phẩm và cơ chất một sẽ kìm hãm các enzym của cơ chất 2. Quá trình này đòi hỏi một thời gian nhất định. Vì thế, ta thấy xuất hiện hai pha lag và hai pha log. Ta có thể xem đồ thị hình 2.6

* Sinh trưởng và phát triển trong nuôi cấy liên tục

Phương pháp nuôi cấy liên tục là phương pháp người ta cho dòng môi trường mới liên tục vào trong quá trình lên men, đồng thời sẽ lấy liên tục sản phẩm của quá trình lên men đó ra khỏi hệ thống lên men.

Trong phương pháp này người ta giữ thể tích lên men trong thiết bị lên men không thay đổi, bằng cách điều chỉnh tốc độ môi trường mới vào và sản phẩm cuối của quá trình lên men. Tốc độ này thường không thay đổi. Vì sinh vật phát triển trong môi trường nuôi cấy liên tục sẽ có một quy luật riêng. Quá trình tăng sinh khối trong một quy luật riêng. Quá trình tăng sinh khối trong môi trường lên men liên tục cùng trải qua giai đoạn thích ứng ban đầu (pha lag) và giai đoạn tăng sinh khối (pha log). Nhưng sau đó tổng lượng sinh khối sẽ không thay đổi. Ta có thể xem đồ thị sinh trưởng sau:

[missing_resource: .jpg]

Hình 2.6. Sinh trưởng kép của vi sinh vật Hình 2.7. Sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật trong môi trường cấy liên tục

Các giai đoạn sinh trưởng và phát triển trong nuôi cấy tĩnh

Phương pháp nuôi cấy tĩnh hay phương pháp nuôi cấy theo chu kỳ là phương pháp nuôi cấy ở đó môi trường dinh dưỡng được giữ nguyên khi bắt đầu nuôi cấy đến khi kết thúc quá trình nuôi cấy mà không cho thêm chất dinh dưỡng mới vào.

Đồng thời sản phẩm của quá trình lên men đó chỉ lấy ra khi hết quá trình nuôi cấy.

Sự phát triển và sinh trưởng của vi sinh vật trong hệ kín đó tuân theo một quy luật nhất định.

Biểu thị quy luật sinh trưởng và phát triển trong hệ kín này bằng một đồ thị người ta gọi là đồ thị sinh trưởng đơn hay đường cong sinh trưởng đơn.

Sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật trong hệ kín này phải trải qua 4 giai đoạn sau:

Giai đoạn thứ nhất (1): Giai đoạn này còn gọi là pha lag - Pha tiền phát. Ở giai đoạn này được tính từ lúc bắt đầu nuôi cấy đến lúc bắt đầu thấy sự sinh trưởng và phát triển nhanh.

Số lượng tế bào vô sinh khối 12340ABCD Thời gian

Hình 2.5. Đường cong sinh trưởng của vi sinh vật

Ở giai đoạn này vi sinh vật chưa tiến hành sinh sản mà chỉ xảy ra quá trình thích nghi với môi trường nuôi cấy. Kích thích các tế bào bắt đầu tăng dần do sự trao đổi chất với môi trường rất mạnh. Thời gian pha này ngắn hay dài phụ thuộc rất nhiều vào tuổi sinh lý của giống vi sinh vật đưa vào nuôi cấy và chất lượng của thành phần môi trường.

Giai đoạn thứ hai (2): còn gọi là pha cấp số hay pha log. Pha này được biểu hiện rõ nét bởi tốc độ sinh sản của vi sinh vật đạt cực đại. Tế bào vừa sinh sản mạnh, vừa tăng sinh khối. Pha này được biểu thị như một cấp số nhân, nó tăng theo phương trình:

$$B_1 = B_0 \cdot 2^n$$

Trong pha này các chất dinh dưỡng giảm đi rất nhanh do sự đồng hoá chúng bởi vì vi sinh vật phát triển rất mạnh. Ở giai đoạn này vi sinh vật tiến hành tổng hợp enzym với số lượng và chất lượng rất cao. Vì thế nếu mục đích của quá trình nuôi cấy là thu nhận các chất có hoạt tính sinh học hoặc tế bào có khả năng hoạt động mạnh, người ta thường kết thúc quá trình ở cuối giai đoạn log này.

Giai đoạn thứ ba (3): Là giai đoạn cân bằng hay pha ổn định. Trong pha này quần thể vi sinh vật ở trạng thái cân bằng động. Tổng số tế bào mới sinh ra bao giờ cũng gần bằng tổng số tế bào chết đi.

Các chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy giảm một cách rõ rệt. Các chất tạo ra do quá trình trao đổi chất được tích lũy trong môi trường rất lớn.

Sinh khối chung trong pha này đạt được là cao nhất trong quá trình nuôi cấy. Vì thế nếu mục đích nuôi cấy là chỉ để thu tổng sinh khối thì nên kết thúc ở giữa pha ổn định.

Giai đoạn thứ tư (4): Còn gọi là pha tử vong. Trong pha này số lượng tế bào sinh ra và tế bào chết không cân bằng. Số lượng tế bào chết tăng rất nhanh.

Sự phân bố của vi sinh vật trong môi trường tự nhiên

Phần này trình bày về môi trường đất và sự phân bố của vi sinh vật trong đất

MÔI TRƯỜNG ĐẤT VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG ĐẤT

Môi trường đất

Môi trường đất là cả một thế giới - một hệ sinh thái phức tạp được hình thành qua nhiều quá trình sinh học, vật lý và hoá học. Sự tích lũy các chất hữu cơ đầu tiên trên bề mặt đá mẹ là nhờ các vi sinh vật tự dưỡng. Đó là các vi sinh vật sống bằng chất vô cơ, phân huỷ các chất vô cơ, tổng hợp nên các chất hữu cơ của cơ thể mình. Khi các vi sinh vật đó chết đi, một lượng các chất hữu cơ được tích lũy lại. vi sinh vật dị dưỡng nhờ các chất hữu cơ đó mà sống. Sau đó các thực vật bậc thấp như tảo, rêu, địa y bắt đầu mọc trên tầng chất hữu cơ đầu tiên đó. Khi lớp thực vật này chết đi, các vi sinh vật dị dưỡng sẽ phân huỷ chúng làm cho lớp chất hữu cơ càng thêm phong phú. Nhờ đó mà các thực vật bậc cao có thể phát triển. Lá cành của thực vật bậc cao rụng xuống lại cung cấp một lượng lớn chất hữu cơ làm cho các loại vi sinh vật dị dưỡng phát triển mạnh mẽ. Các tế bào vi sinh vật này lại là nguồn thức ăn của các nhóm nguyên sinh động vật như trùng roi, amip ... Nguyên sinh động vật lại là thức ăn của các động vật khác trong đất như giun, nhuyễn thể, côn trùng ... Các động vật này trong quá trình sống cũng tiết ra các chất hữu cơ và bản thân chúng khi chết đi cũng là một nguồn hữu cơ lớn cho vi sinh vật và thực vật phát triển. Các loại sinh vật cứ tác động lẫn nhau như thế trong những điều kiện môi trường nhất định như độ ẩm, nhiệt độ, chất dinh dưỡng, năng lượng mặt trời ... tạo thành một hệ sinh thái đất vô cùng phong phú mà không có nó thì không thể có sự sống, không thể có đất trồng trọt - nguồn nuôi sống con người. Vậy hệ sinh thái đất là một thể thống nhất bao gồm các nhóm sinh vật sống trong đất, có quan hệ tương hỗ lẫn nhau dưới tác động của môi trường sống, có sự trao đổi vật chất và năng lượng. Trong hệ sinh thái đất, vi sinh vật đóng vai trò quan trọng

, chúng chiếm đại đa số về thành phần cũng như số lượng so với các sinh vật khác.

Đất là môi trường thích hợp nhất đối với vi sinh vật, bởi vậy nó là nơi cư trú rộng rãi nhất của vi sinh vật, cả về thành phần cũng như số lượng so với các môi trường khác. Sở dĩ như vậy vì trong đất nói chung và trong đất trồng trọt nói riêng có một khối lượng lớn chất hữu cơ. Đó là nguồn thức ăn cho các nhóm vi sinh vật dị dưỡng, ví dụ như nhóm vi sinh vật các hợp chất các bon hữu cơ, nhóm vi sinh vật phân huỷ các hợp chất Nitơ hữu cơ ... Các chất vô cơ có trong đất cũng là nguồn dinh dưỡng cho các nhóm vi sinh vật tự dưỡng. Đó là các nhóm phân huỷ các chất vô cơ, chuyển hoá các chất hợp chất S, P, Fe ...

Các chất dinh dưỡng không những tập trung nhiều ở tầng đất mà còn phân tán xuống các tầng đất sâu. Bởi vậy ở các tầng đất khác nhau, sự phân bố vi sinh vật khác nhau phụ thuộc vào hàm lượng các chất dinh dưỡng.

Mức độ thoáng khí của đất cũng là một điều kiện ảnh hưởng đến sự phân bố của vi sinh vật. Các nhóm hiếu khí phát triển ở nhiều nơi có nồng độ ôxy cao. Những nơi yếm khí, hàm lượng oxy thấp thường phân bố nhiều loại vi sinh vật kỵ khí.

Độ ẩm và nhiệt độ trong đất cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật đất. Đất vùng nhiệt đới thường có độ ẩm 70 - 80% và nhiệt độ 200C - 300C. Đó là nhiệt độ và độ ẩm thích hợp với đa số vi sinh vật. Bởi vậy trong mỗi gram đất thường có hàng chục triệu đến hàng tỷ tế bào vi sinh vật bao gồm nhiều nhóm, khác nhau về vị trí phân loại cũng như hoạt tính sinh lý, sinh hoá. Đó là cả một thế giới phong phú chứa trong một nắm đất nhỏ bé mà bình thường ta không thể hình dung ra được. Chúng ta có thể tưởng tượng: một nắm đất là một vương quốc bao gồm các sắc tộc khác nhau sống chen chúc, tập nập và hoạt động sôi nổi.

Sự phân bố của vi sinh vật trong đất và mối quan hệ giữa các nhóm vi sinh vật

Sự phân bố của vi sinh vật trong đất

Vi sinh vật là những cơ thể nhỏ bé dễ dàng phát tán nhờ gió, nước và các sinh vật khác. Bởi vậy nó có thể di chuyển một cách dễ dàng đến mọi nơi trong thiên nhiên. Nhất là những vi sinh vật có bào tử, bào tử của chúng có khả năng sống tiềm sinh trong các điều kiện khó khăn. Khi gặp điều kiện thuận lợi, chúng lại phát triển, sinh sôi. Bởi vậy trên trái đất này, nếu có một loại sinh vật nào phân bố rộng rãi nhất, phong phú nhất thì đó chính là vi sinh vật. Nó phân bố ở khắp mọi nơi. Tuy nhiên, đất là nơi vi sinh vật cư trú nhiều nhất so với các môi trường khác. Sự phân bố của vi sinh vật đất còn gọi là khu hệ vi sinh vật đất.

Chúng bao gồm các nhóm có đặc tính hình thái, sinh lý và sinh hoá rất khác nhau. Các nhóm vi sinh vật chính cư trú trong đất bao gồm: Vi khuẩn, Vi nấm, Xạ khuẩn, Virus, Tảo, Nguyên sinh động vật. Trong đó vi khuẩn là nhóm chiếm nhiều nhất về số lượng. Chúng bao gồm vi khuẩn hiếu khí, vi khuẩn kỵ khí, vi khuẩn tự dưỡng, vi khuẩn dị dưỡng ... Nếu chia theo các nguồn dinh dưỡng thì lại có nhóm tự dưỡng cacbon, tự dưỡng amin, dị dưỡng amin, vi khuẩn cố định nitơ v.v...

Số lượng và thành phần vi sinh vật trong đất thay đổi khá nhiều. Trước hết số lượng và thành phần vi sinh vật trên bề mặt đất rất ít do ngay trên bề mặt đất độ ẩm không phải là thích hợp cho vi sinh vật phát triển, hai nữa bề mặt đất bị mặt trời chiếu rọi nên vi sinh vật bị tiêu diệt.

Số lượng và thành phần vi sinh vật thấy nhiều hơn khi chiều sâu đất 10 - 20 cm so với bề mặt, ở tầng lớp này độ ẩm vừa thích hợp, các chất dinh dưỡng tích lũy nhiều, không bị tác dụng của ánh sáng mặt trời nên vi sinh vật phát triển nhanh, các quá trình chuyển hoá quan trọng trong đất chủ yếu xảy ra trong tầng đất này. Số lượng và thành phần vi sinh vật sẽ giảm đi khi độ sâu của đất hơn 30 cm và sâu 4 - 5m hầu như rất ít (trừ trường hợp đất có mạch nước ngầm). Rõ ràng là vi sinh vật ở tầng đất này phải là loài yếm khí đồng thời phải chịu được áp suất lớn mới phát triển được. Hai nữa ở lớp đất này hầu như các chất hữu cơ rất hiếm.

Số lượng và thành phần vi sinh vật trong đất còn thay đổi tùy chất đất, ở nơi đất nhiều chất hữu cơ, giàu chất mùn có độ ẩm thích hợp vi sinh vật phát triển mạnh, thí dụ ở đầm lầy, đồng nước trũng, ao hồ, khúc sông chết, cống rãnh, ... Còn ở những nơi đất có đá, đất có cát số lượng và thành phần vi sinh vật ít hơn. Lợi dụng sự có mặt của vi sinh vật trong đất mà người ta phân lập, tuyển chọn, đồng thời duy trì những chuyển hoá có lợi phục vụ cho cuộc sống.

Bảng 3.1. Lượng vi khuẩn trong đất xác định theo chiều sâu đất

Chiều sâu đất (cm)	Vi khuẩn	Xạ khuẩn	Nấm mốc	Rong tảo
3 - 8	9.750.000	2.080.000	119.000	25.000
20 - 25	2.179.000	245.000	50.000	5.000
35 - 40	570.000	49.000	14.000	500
65 - 75	11.000	5.000	6.000	100
135- 145	1.400		3.000	

Theo nhiều tài liệu đáng tin cậy thì trung bình trong đất vi khuẩn chiếm khoảng 90% tổng số. Xạ khuẩn chiếm khoảng 8%, vi nấm 1%, còn lại 1% là tảo, nguyên sinh động vật. Tỷ lệ này thay đổi tùy theo các loại đất khác nhau cũng như khu vực địa lý, tầng đất, thời vụ, chế độ canh tác v.v... Ở những đất có đầy đủ chất dinh dưỡng, độ thoáng khí tốt, nhiệt độ, độ ẩm và pH thích hợp thì vi sinh vật phát triển nhiều về số lượng và thành phần. Sự phát triển của vi sinh vật lại chính là nhân tố làm cho đất thêm phì nhiêu, màu mỡ.

Bởi vậy, khi đánh giá độ phì nhiêu của đất phải tính đến thành phần và số lượng vi sinh vật. Nếu chỉ tính đến hàm lượng chất hữu cơ thì khó giải thích được tại sao ở một vùng đất chiêm trũng hàm lượng chất hữu cơ, chất mùn, đạm, lân đều cao mà cây trồng phát triển lại kém. Đó là do điều kiện yếm khí của đất hạn chế các loại vi sinh vật hiếu khí phát triển làm cho các chất hữu cơ không được phân giải. Các dạng chất khó tiêu đối với cây trồng không được chuyển thành dạng dễ tiêu. Các chất độc tích lũy trong đất trong quá trình trao đổi chất của cây cũng không được phân giải nhờ vi sinh vật, gây ảnh hưởng xấu đến cây trồng. Sự phân bố của vi sinh vật trong đất có thể chia ra theo các kiểu phân loại sau đây:

1. Phân bố theo chiều sâu:

Quần thể vi sinh vật thường tập trung nhiều nhất ở tầng canh tác. Đó là nơi tập trung rễ cây, chất dinh dưỡng, có cường độ chiếu sáng, nhiệt độ, độ ẩm thích hợp nhất. Số lượng vi sinh vật giảm dần theo tầng đất, càng xuống sâu càng ít vi sinh vật. Theo số liệu của Hoàng Lương Việt: ở tầng đất 9 - 20 cm của đất đồi Mộc Châu - Sơn La có tới 70,3 triệu vi sinh vật trong 1 gram đất. Tầng từ 20 - 40 cm có chứa 48,6 triệu, tầng 40 - 80cm có 45,8 triệu, tầng 80 - 120cm có chứa 40,7 triệu.

Riêng đối với đất bạc màu, do hiện tượng rửa trôi, tầng 0 - 20 cm ít chất hữu cơ hơn tầng 20 - 40cm. Bởi vậy ở tầng này số lượng vi sinh vật nhiều hơn tầng trên. Sau đó giảm dần ở các tầng dưới.

Thành phần vi sinh vật cũng thay đổi theo tầng đất: vi khuẩn hiếu khí, vi nấm, xạ khuẩn thường tập trung ở tầng mặt vì tầng này có nhiều oxy. Càng xuống sâu, các nhóm vi sinh vật hiếu khí càng giảm mạnh. Ngược lại, các nhóm vi khuẩn kỵ khí như vi khuẩn phản nitrat hoá phát triển mạnh ở độ sâu 20 - 40cm. Ở vùng khí hậu nhiệt đới nóng ẩm thường có quá trình rửa trôi, xói mòn nên tầng 0 - 20cm dễ biến động, tầng 20 - 40cm ổn định hơn.

2. Phân bố theo các loại đất

Các loại đất khác nhau có điều kiện dinh dưỡng, độ ẩm, độ thoáng khí, pH khác nhau. Bởi vậy sự phân bố của vi sinh vật cũng khác nhau. Ở đất

lúa nước, tình trạng ngập nước lâu ngày làm ảnh hưởng đến độ thông khí, chế độ nhiệt, chất dinh dưỡng ... Chỉ có một lớp mỏng ở trên, khoảng 0 - 3 cm là có quá trình oxy hoá, ở tầng dưới quá trình khử oxy chiếm ưu thế. Bởi vậy, trong đất lúa nước ác loại vi sinh vật kỵ khí phát triển mạnh. Ví dụ như vi khuẩn amôn hoá, vi khuẩn phản nitrat hoá. Ngược lại, các loại vi sinh vật hiếu khí như vi khuẩn nitrat hoá, vi khuẩn cố định nitơ, vi nấm và xạ khuẩn đều rất ít. Tỷ lệ giữa vi khuẩn hiếu khí/ yếm khí luôn luôn nhỏ hơn 1.

Ở đất trồng màu, không khí lưu thông tốt, quá trình oxy hoá chiếm ưu thế, bởi thế các loài sinh vật hiếu khí phát triển mạnh, vi sinh vật yếm khí phát triển yếu. Tỷ lệ giữa vi khuẩn hiếu khí và yếm khí thường lớn hơn 1, có trường hợp đạt tới 4 - 5. Ở đất giàu chất dinh dưỡng như phù sa sông Hồng, số lượng vi sinh vật tổng số rất cao. Ngược lại, vùng đất bạc màu Hà Bắc có số lượng vi sinh vật ít nhất.

+ Phân bố theo cây trồng

Đối với tất cả các loại cây trồng, vùng rễ cây là vùng vi sinh vật phát triển mạnh nhất so với vùng không có rễ. Sở dĩ như thế vì rễ cây cung cấp một lượng lớn chất hữu cơ khi nó chết đi. Khi còn sống, bản thân rễ cây cũng thường xuyên tiết ra các chất hữu cơ làm nguồn dinh dưỡng cho vi sinh vật. Rễ cây còn làm cho đất thoáng khí, giữ được độ ẩm. Tất cả những nhân tố đó làm cho số lượng vi sinh vật ở vùng rễ phát triển mạnh hơn vùng ngoài rễ.

Tuy nhiên, mỗi loại cây trồng trong quá trình sống của nó thường tiết qua bộ rễ những chất khác nhau. Bộ rễ khi chết đi cũng có thành phần các chất khác nhau. Thành phần và số lượng các chất hữu cơ tiết ra từ bộ rễ quyết định thành phần và số lượng vi sinh vật sống trong vùng rễ đó. Ví dụ như vùng rễ cây họ Đậu thường phân bố nhóm vi khuẩn cố định nitơ cộng sinh còn ở vùng rễ Lúa là nơi cư trú của các nhóm cố định nitơ tự do hoặc nội sinh ... Số lượng và thành phần vi sinh vật cũng thay đổi theo các giai đoạn phát triển của cây trồng. Ở đất vùng phù sa sông Hồng, số lượng vi sinh vật đạt cực đại ở giai đoạn lúa hồi nhanh, đẻ nhánh, giai đoạn này là cây lúa sinh trưởng mạnh. Bởi vậy thành phần và số lượng

chất hữu cơ tiết qua bộ rễ cũng lớn - đó là nguồn dinh dưỡng cho vi sinh vật vùng rễ. Số lượng vi sinh vật đạt cực tiểu ở thời kỳ lúa chín. Thành phần vi sinh vật cũng biến động theo các giai đoạn phát triển của cây phù hợp với hàm lượng các chất tiết qua bộ rễ.

Mối quan hệ giữa các nhóm vi sinh vật trong đất

Sự phân bố của vi sinh vật trong đất vô cùng phong phú cả về số lượng cũng như thành phần. Trong quá trình sống chung như thế, chúng có một mối quan hệ tương hỗ vô cùng chặt chẽ. Dựa vào tính chất của các loại quan hệ giữa các nhóm vi sinh vật, người ta chia ra làm 4 loại quan hệ: ký sinh, cộng sinh, hỗ sinh và kháng sinh.

1. Quan hệ ký sinh:

Quan hệ ký sinh là hiện tượng vi sinh vật này sống ký sinh trên vi sinh vật, hoàn toàn ăn bám và gây hại cho vật chủ. Ví dụ như các loại virus sống ký sinh trong tế bào vi khuẩn hoặc một vài loài vi khuẩn sống ký sinh trên vi nấm. Các loại vi khuẩn cố định nitơ cộng sinh thường hay bị một loại thực khuẩn thể ký sinh và tiêu diệt. Khi nuôi cấy vi khuẩn *Rhizobium* trên môi trường dịch thể thường có hiện tượng môi trường đang đục trở nên trong. Nguyên nhân là do thực khuẩn thể xâm nhập và làm tan tất cả các tế bào vi khuẩn - gọi là hiện tượng sinh tan. Khi nuôi cấy vi khuẩn trên môi trường đặc cũng có hiện tượng như vậy. Các thực khuẩn thể này tồn tại ở trong đất trồng cây họ Đậu làm ảnh hưởng rất lớn đến quá trình hình thành nốt sần ở cây Đậu.

2. Quan hệ cộng sinh:

Quan hệ cộng sinh là quan hệ hai bên cùng có lợi, bên này không thể thiếu bên kia trong quá trình sống. Ở vi sinh vật người ta ít quan sát thấy quan hệ cộng sinh. Có một số giả thiết cho rằng: Ty thể - cơ quan hô hấp của tế bào vi nấm chính là một vi khuẩn cộng sinh với vi nấm. Giả thiết đó dựa trên cấu tạo của ty thể có cả bộ máy ADN riêng biệt, có thể tự sao chép như một cơ thể độc lập. Giả thiết này còn chưa được công nhận hoàn toàn. Lại có giả thiết cho rằng: Các plasmid có trong vi nấm và vi khuẩn chính là sự cộng sinh giữa virus và vi nấm hay vi khuẩn đó.

Ví dụ như các plasmid mang gen kháng thuốc đã mang lại mỗi lợi cho vi khuẩn chủ là kháng được thuốc kháng sinh. Vì thế mà hai bên cùng có lợi và gọi là quan hệ cộng sinh.

3. Quan hệ hỗ sinh:

Quan hệ hỗ sinh là quan hệ hai bên cùng có lợi nhưng không nhất thiết phải có nhau mới sống được như quan hệ cộng sinh. Quan hệ này thường thấy trong sự sống của vi sinh vật vùng rễ. Ví dụ như mối quan hệ giữa nấm mốc phân huỷ tinh bột thành đường và nhóm vi khuẩn phân giải loại đường đó. Mối quan hệ giữa nhóm vi khuẩn phân giải photpho và nhóm vi khuẩn phân giải protein cũng là quan hệ hỗ sinh, trong đó nhóm thứ nhất cung cấp P cho nhóm thứ hai và nhóm thứ hai cung cấp N cho nhóm thứ nhất.

4. Quan hệ kháng sinh:

Quan hệ kháng sinh là mối quan hệ đối kháng lẫn nhau giữa hai nhóm vi sinh vật. Loại này thường tiêu diệt loại kia hoặc hạn chế quá trình sống của nó. Ví dụ điển hình là xạ khuẩn kháng sinh và nhóm vi khuẩn mẫn cảm với chất kháng sinh do xạ khuẩn sinh ra. Khi nuôi cấy 2 nhóm này trên môi trường thạch đĩa, ta có thể thấy rõ hiện tượng kháng sinh: xung quang nơi xạ khuẩn có một vòng vô khuẩn, tại đó vi khuẩn không mọc được. Người ta căn cứ vào đường kính của vòng vô khuẩn đó mà đánh giá khả năng sinh kháng sinh của xạ khuẩn. Tất cả các mối quan hệ trên đây của khu hệ vi sinh vật đất tạo nên những hệ sinh thái vô cùng phong phú trong từng loại đất.

Chúng làm nên độ màu mỡ của đất, thay đổi tính chất lý hoá của đất và từ đó ảnh hưởng đến cây trồng.

Mối quan hệ giữa đất, vi sinh vật và thực vật

Quan hệ giữa đất và vi sinh vật đất

Đất có kết cấu từ những hạt nhỏ liên kết với nhau thành cấu trúc đoàn lạp của đất. Vậy yếu tố nào đã liên kết các hạt đất với nhau. Có quan điểm cho rằng vi sinh vật đóng vai trò gián tiếp trong sự liên kết các hạt đất với nhau. Hoạt động của vi sinh vật, nhất là nhóm háo khí đã hình thành nên một thành phần của mùn là axit humic. Các muối của axit humic tác dụng với ion Canxi tạo thành một chất dẻo gắn kết những hạt đất với nhau. Sau này người ta đã tìm ra vai trò trực tiếp của vi sinh vật trong việc tạo thành kết cấu đất: Trong quá trình phân giải chất hữu cơ, nấm mốc và xạ khuẩn phát triển một hệ khuẩn ti khá lớn trong đất. Khi nấm mốc và xạ khuẩn chết đi, vi khuẩn phân giải chúng tạo thành các chất dẻo có khả năng kết dính các hạt đất với nhau. Bản thân vi khuẩn chết đi và tự phân huỷ cũng tạo thành các chất kết dính. Ngoài ra lớp dịch nhày bao quanh các vi khuẩn có vỏ nhày cũng có khả năng kết dính các hạt đất với nhau.

Genxe - một nhà nghiên cứu về kết cấu đã nhận xét rằng: khi bón vào đất những chất như Xenluloza và Protein thì kết cấu của đất được cải thiện. Đó là do vi sinh vật phân giải xenluloza và protein đã phát triển mạnh mẽ, các sản phẩm phân giải của chúng và các chất tiết trong quá trình sống của chúng đã liên kết các hạt đất với nhau tạo nên cấu trúc đất.

Rudacop khi nghiên cứu về kết cấu đoàn lạp ở đất trồng cây họ đậu đã kết luận rằng: Nhân tố kết dính các hạt đất trong đất trồng cây họ đậu chính là một sản phẩm kết hợp giữa axit galactorunic và sản phẩm tự dung giải của vi khuẩn *Clostridium polymyxa*. Axit galactorenic là sản phẩm của thực vật được hình thành dưới tác dụng của enzym protopectinaza do vi khuẩn tiết ra. Các chất kết dính tạo thành kết cấu đất còn được gọi là mùn hoạt tính. Như vậy mùn không những là nơi tích lũy chất hữu cơ làm nên độ phì nhiêu của đất mà còn là nhân tố tạo nên kết cấu đất. Sự hình thành và phân giải mùn đều do vi sinh vật đóng vai trò tích cực. Vì vậy các điều kiện ngoại cảnh ảnh hưởng đến vi sinh vật cũng ảnh hưởng đến hàm lượng mùn trong đất. Đặc biệt nước ra ở trong vùng nhiệt đới nóng ẩm, sự hoạt động của vi sinh vật rất mạnh ảnh hưởng rất lớn đến sự tích lũy và phân giải mùn. Các biện pháp canh tác như cày bừa, xới xáo, bón phân ... đều ảnh hưởng trực tiếp đến vi sinh vật và qua đó ảnh hưởng đến hàm lượng mùn trong đất.

1. Tác động của sự cày xới, đảo trộn đất đến vi sinh vật đất

Cày xới, đảo trộn có tác dụng điều hoà chất dinh dưỡng, làm đất thoáng khí tạo điều kiện cho vi sinh vật phát triển mạnh. Theo thí nghiệm của Mitxustin và Nhiacôp, các phương pháp cày xới khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến số lượng và thành phần vi sinh vật. Từ đó cường độ các quá trình sinh học trong đất cũng khác nhau. Khi xới lớp đất canh tác nhưng không lật mặt, số lượng vi sinh vật cũng như cường độ hoạt động có tăng lên nhưng không nhiều bằng xới đất có lật mặt hoặc cày sâu. Tuy nhiên không phải đất nào cũng theo quy luật đó, đối với đất úng ngập, quy luật trên thể hiện rõ hơn trong khi đó ở đất cát nhẹ khô hạn thì việc xới xáo không hợp lý lại làm giảm lượng vi sinh vật.

2. Tác động của phân bón đến vi sinh vật đất

Khi ta bón các loại phân hữu cơ và vô cơ vào đất, phân tác dụng nhanh hay chậm đến cây trồng là nhờ hoạt động của vi sinh vật. Vi sinh vật phân giải hữu cơ thành dạng vô cơ cho cây trồng hấp thụ, biến dạng vô cơ khó tan thành dễ tan ...

Ngược lại các loại phân bón cũng ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật trong đất.

Phân hữu cơ như phân chuồng, phân xanh, bùn ao ... đặc biệt làm tăng số lượng vi sinh vật vì bản thân trong đó đã có một số lượng lớn vi sinh vật. Chất hữu cơ vào đất lại làm tăng số lượng vi sinh vật sẵn có trong đất, đặc biệt là vi sinh vật phân giải xenluloza, phân giải protein và nguyên sinh động vật. Tuy vậy, các loại phân hữu cơ khác nhau tác động đến sự phát triển của vi sinh vật đất ở các mức độ khác nhau tùy thuộc vào tỷ lệ C/N của phân bón.

Phân vô cơ cũng có tác dụng thúc đẩy sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật đất vì nó có các nguyên tố N, P, K, Ca, vi lượng rất cần thiết cho vi sinh vật. Đặc biệt là khi bón phối hợp các loại phân vô cơ với phân hữu cơ sẽ làm tăng số lượng vi sinh vật lên từ 3 - 4 lần so với bón phân khoáng đơn thuần, đặc biệt là các vi khuẩn Azotobacter, vi khuẩn amôn hoá, nitrat hoá, phân giải xenluloza. Khi trong đất có nhiều phân hữu cơ

thì việc bón các loại phân vô cơ có tác dụng kích thích hoạt động phân giải chất hữu cơ của vi sinh vật. Bón vôi có tác dụng cải thiện tính chất lý hoá của đất, làm tăng cường hoạt động của vi sinh vật, nhất là đối với đất chua, mặn, bạc màu.

3. Tác động của chế độ nước đối với vi sinh vật:

Đại đa số các loại vi khuẩn có ích đều phát triển mạnh mẽ ở độ ẩm 60 - 80%.

Độ ẩm quá thấp hoặc quá cao đều ức chế vi sinh vật. Chỉ có nấm mốc và xạ khuẩn là có thể phát triển được ở điều kiện khô. Ở các ruộng lúa nước các loại vi khuẩn đã thích hợp với độ ẩm cao, tuy nhiên ở những ruộng có tính thấm nước cao được làm ải, sự phát triển vi sinh vật cũng tốt hơn. Đặc biệt là cân đối được tỷ lệ giữa hai loại háo khí và yếm khí.

4. Tác động đến chế độ canh tác khác tới vi sinh vật

Ngoài các chế độ phân bón, nước, làm đất, các chế độ canh tác khác cũng có tác dụng rõ rệt tới hoạt động của vi sinh vật. Ví dụ như chế độ luân canh cây trồng. Mỗi loại cây trồng đều có một khu hệ vi sinh vật đặc trưng sống trong vùng rễ của nó. Bởi vậy luân canh cây trồng làm cho khu hệ vi sinh vật đất cân đối và phong phú hơn. Người ta thường luân canh các loại cây trồng khác với cây họ đậu để tăng cường hàm lượng đạm cho đất.

Các loại thuốc hoá học trừ sâu, diệt cỏ gây tác động có hại tới vi sinh vật cũng như hệ sinh thái đất nói chung. Việc dùng các loại thuốc hoá học làm ô nhiễm môi trường đất, tiêu diệt phần lớn các loại vi sinh vật và động vật nguyên sinh trong đất.

Tất cả những biện pháp canh tác nói trên có ảnh hưởng trực tiếp và sâu sắc đến sự phát triển của vi sinh vật trong đất, từ đó ảnh hưởng đến quá trình hoạt động sinh học, cụ thể là sự chuyển hoá các chất hữu cơ và vô cơ trong đất, ảnh hưởng đến quá trình hình thành mùn và kết cấu đất. Những yếu tố này lại ảnh hưởng trực tiếp đến cây trồng. Bởi vậy, việc

ngiên cứu đất sao cho thích hợp với năng suất cây trồng không thể bỏ qua yếu tố sinh học đất.

Mối quan hệ giữa vi sinh vật và thực vật

Mỗi loại cây đều có một khu hệ vi sinh vật vùng rễ đặc trưng cho cây đó bởi vì rễ thực vật thường tiết ra một lượng lớn các chất hữu cơ và vô cơ, các chất sinh trưởng ..., thành phần và số lượng của các chất đó khác nhau tùy loại cây. Những chất tiết của rễ có ảnh hưởng quan trọng đến vi sinh vật vùng rễ. Trên bề mặt và lớp đất nằm sát rễ chứa nhiều chất dinh dưỡng nên tập trung vi sinh vật với số lượng lớn. Càng xa rễ số lượng vi sinh vật càng giảm đi.

Thành phần vi sinh vật vùng rễ không những phụ thuộc vào loại cây trồng mà còn phụ thuộc vào thời kỳ phát triển của cây. Vi sinh vật phân giải xenluloza có rất ít khi cây còn non nhưng khi cây già thì rất nhiều. Điều đó chứng tỏ vi sinh vật không những sử dụng các chất tiết của rễ mà còn phân huỷ rễ khi rễ cây già, chết đi.

Vi sinh vật sống trong vùng rễ có quan hệ mật thiết với cây, chúng sử dụng những chất tiết của cây làm chất dinh dưỡng, đồng thời cung cấp chất dinh dưỡng cho cây qua quá trình hoạt động phân giải của mình. Vi sinh vật còn tiết ra các vitamin và chất sinh trưởng có lợi đối với cây trồng. Bên cạnh đó có rất nhiều vi sinh vật gây bệnh cho cây, có những loại ức chế sự sinh trưởng của cây, có những loại tàn phá mùa màng nghiêm trọng.

Trong khu hệ vi sinh vật vùng rễ ngoài những nhóm vi sinh vật có ích, có rất nhiều vi sinh vật gây bệnh cây. Đó là mối quan hệ ký sinh của vi sinh vật trên thực vật. Nhóm vi sinh vật gây bệnh cây thuộc loại dị dưỡng, sống nhờ vào chất hữu cơ của thực vật đang sống (khác với nhóm hoại sinh- sống trên những tế bào thực vật đã chết).

Hàng năm bệnh cây đã gây thiệt hại to lớn cho sản xuất nông nghiệp. Vi sinh vật gây bệnh không chỉ làm giảm sản lượng mà còn làm giảm phẩm chất nông sản. Vi sinh vật sử dụng các chất hữu cơ của cây bằng cách tiết ra các loại men phân huỷ chúng. Trong quá trình sống chúng tiết ra

các chất độc làm cây chết. Ví dụ như độc tố Lycomarasmin do nấm *Fusarium heterosporum* tiết ra có thể làm cây chết.

Vi sinh vật gây bệnh có khả năng tồn tại trong đất hoặc trên tàn dư thực vật từ vụ này qua vụ khác dưới dạng bào tử hoặc các dạng tiềm sinh khác gọi là nguồn bệnh tiềm tàng. Từ nguồn bệnh tiềm tàng vi sinh vật được phát tán đi khắp nơi nhờ gió, nước mưa, dụng cụ lao động, động vật và người, đặc biệt là qua côn trùng môi giới. Qua các con đường đó nguồn bệnh lây lan sang các khoẻ và bắt đầu xâm nhiễm vào cây khi gặp điều kiện thuận lợi. Các bào tử nằm trên bề mặt cây khi gặp độ ẩm và nhiệt độ thích hợp sẽ nảy mầm và xâm nhập vào cây. Sau khi xâm nhập vào cây chúng bắt đầu sử dụng các chất của cây và tiết chất độc làm cây suy yếu hoặc chết. Qua quá trình hoạt động của vi sinh vật cây bị thay đổi các quá trình sinh lý, sinh hoá, sau đó thay đổi về cấu tạo và hình thái tế bào cuối cùng là xuất hiện những triệu chứng bệnh như những đốm trên lá, trên thân. Nếu bệnh xuất hiện ở bó mạch thì biểu hiện triệu chứng héo lá, héo thân ... Sau một thời gian phát triển vi sinh vật bắt đầu hình thành cơ quan sinh sản mọc ra ngoài bề mặt của cây và từ đó lại lan truyền đi.

Để tránh bệnh cho cây người ta dùng nhiều biện pháp hoá học, biện pháp sinh vật học, biện pháp tổng hợp bảo vệ cây trồng ... Ngày nay người ta hạn chế việc chống bệnh bằng hoá học vì biện pháp này thường phá hoại sự cân bằng sinh thái, ô nhiễm môi trường. Các biện pháp sinh học đang được nghiên cứu và áp dụng ngày càng nhiều do những ưu điểm của nó. Đó là những biện pháp dùng vi sinh vật chống côn trùng hại cây. Một biện pháp hiện đại đang được nghiên cứu và áp dụng nữa là tạo cho cây những đặc tính chống chịu mới bằng biện pháp công nghệ sinh học - truyền gen chống chịu cho cây. Người ta đã tạo được những giống thuốc lá chống chịu bệnh virus hoặc những giống khoai tây, cà chua chống bệnh vi khuẩn nhờ việc cấy gen của một loại vi khuẩn nào đó có khả năng chống bệnh vào tế bào thực vật.

MÔI TRƯỜNG NƯỚC VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG NƯỚC

Môi trường nước

Tất cả những nơi có chứa nước trên bề mặt hay dưới lòng đất đều được coi là môi trường nước. Ví dụ như ao, hồ, sông, biển, nước ngầm ...

Những địa điểm chứa nước đó còn gọi là các thuỷ vực. Trong các thuỷ vực khác nhau, tính chất hoá học và vật lý rất khác nhau. Bởi vậy môi trường sống ở từng thuỷ vực đều có đặc trưng riêng biệt và sự phân bố của vi sinh vật phụ thuộc vào những đặc trưng riêng biệt đó.

- Nước ngầm có trong những lớp đất nằm dưới mặt đất do các nguồn nước khác thấm vào. Nước ngầm có hàm lượng muối khoáng khác nhau tùy từng vùng, có vùng chứa nhiều CaCO_3 gọi là nước cứng, có vùng chứa ít CaCO_3 gọi là nước mềm. Nói chung nước ngầm rất nghèo chất dinh dưỡng do đã được lọc qua các tầng đất.

- Nước bề mặt bao gồm suối, sông, hồ, biển. Suối được tạo thành ở những nơi nước ngầm chảy ra bề mặt đất hoặc từ khe của các núi đá. Tùy theo vùng địa lý nước suối có thể rất khác nhau về nhiệt độ và thành phần hoá học. Có những suối nước nóng chảy ra từ các vùng núi lửa hoặc từ độ sâu lớn. Có những suối có thành phần chất khoáng điển hình có tác dụng chữa bệnh. Tùy theo thành phần và hàm lượng chất khoáng mà người ta phân biệt suối mặn, suối chua, suối sắt, suối lưu huỳnh ... Sông có lượng nước nhiều hơn suối. Tính chất lý học và hóa học của sông cũng khác nhau tùy thuộc vào vùng địa lý. Sông ở vùng đồng bằng thường giàu chất dinh dưỡng hơn vùng núi nhưng lại bị ô nhiễm hơn do chất thải công nghiệp và sinh hoạt.

Hồ là những vùng trũng ngập đầy nước trong đất liền. Tính chất lý học và hoá học của các loại hồ cũng rất khác nhau. Hồ ở các vùng núi đá có nguồn nước ngầm chảy ra và hồ ở vùng đồng bằng khác nhau rất lớn về nhiệt độ cũng như thành phần chất dinh dưỡng. Ngay ở trong một hồ cũng có sự phân tầng, ở mỗi tầng lại có một điều kiện môi trường khác nhau. Có những hồ có nồng độ muối cao gọi là hồ nước mặn, nồng độ muối có thể lên tới 28%.

Biển bao phủ gần 3/4 bề mặt trái đất, khác với các thủy vực trong đất liền điển hình về hàm lượng muối cao tới 35%. Ngoài ra biển còn có thành phần các chất khoáng khác với các thủy vực trong đất liền. Các vùng biển và các tầng của biển cũng có các đặc trưng môi trường khác nhau. Thí dụ như về nhiệt độ, áp lực thủy tĩnh, ánh sáng, pH, thành phần hoá học ... Tất cả những yếu tố khác nhau đó đều ảnh hưởng trực tiếp đến sự phân bố của vi sinh vật trong các môi trường nước.

Sự phân bố của vi sinh vật trong các môi trường nước

Vi sinh vật có mặt ở khắp nơi trong các nguồn nước. Sự phân bố của chúng hoàn toàn không đồng nhất mà rất khác nhau tùy thuộc vào đặc trưng của từng loại môi trường. Các yếu tố môi trường quan trọng quyết định sự phân bố của vi sinh vật là hàm lượng muối, chất hữu cơ, pH, nhiệt độ và ánh sáng. Nguồn nhiễm vi sinh vật cũng rất quan trọng vì ngoài những nhóm chuyên sống ở nước ta còn có những nhóm nhiễm từ các môi trường khác vào. Ví dụ như từ đất, từ chất thải của người và động vật.

Nước nguyên chất không phải là nguồn môi trường thuận lợi cho vi sinh vật phát triển, vì nước nguyên chất không phải là môi trường giàu dinh dưỡng. Trong nước có hoà tan nhiều chất hữu cơ và muối khoáng khác nhau. Những chất hoà tan này rất thuận lợi cho vi sinh vật sinh trưởng và phát triển.

Vi sinh vật trong nước được đưa từ nhiều nguồn khác nhau:

- Có thể từ đất do bụi bay lên, nguồn nước này chủ yếu bị nhiễm vi sinh vật trên bề mặt.
- Có thể do nước mưa sau khi chảy qua những vùng đất khác nhau cuốn theo nhiều vi sinh vật nơi nước chảy qua.
- Do nước ngầm hoặc nguồn nước khác qua những nơi nhiễm bẩn nghiêm trọng.

- Số lượng và thành phần vi sinh vật thấy trong nước mang đặc trưng vùng đất bị nhiễm mà nước chảy qua.

Ở môi trường nước ngọt, đặc biệt là những nơi luôn có sự nhiễm khuẩn từ đất, hầu hết các nhóm vi sinh vật có trong đất đều có mặt trong nước, tuy nhiên với tỷ lệ khác biệt. Nước ngầm và nước suối thường nghèo vi sinh vật nhất do ở những nơi này nghèo chất dinh dưỡng. Trong các suối có hàm lượng sắt cao thường chứa các vi khuẩn sắt như *Leptothrix ochracea*. Ở các suối chứa lưu huỳnh thường có mặt nhóm vi khuẩn lưu huỳnh màu lục hoặc màu tím. Những nhóm này đều thuộc loại từ dưỡng hoá năng và quang năng. Ở những suối nước nóng thường chỉ tồn tại các nhóm vi khuẩn ưa nhiệt như *Leptothrix thermalis*.

Ở ao, hồ và sông do hàm lượng chất dinh dưỡng cao hơn nước ngầm và suối nên số lượng và thành phần vi sinh vật phong phú hơn nhiều. Ngoài những vi sinh vật tự dưỡng còn có rất nhiều các nhóm vi sinh vật dị dưỡng có khả năng phân huỷ các chất hữu cơ. Hầu hết các nhóm vi sinh vật trong đất đều có mặt ở đây. Ở những nơi bị nhiễm bẩn bởi nước thải sinh hoạt còn có mặt các vi khuẩn đường ruột và các vi sinh vật gây bệnh khác. Tuy những vi khuẩn này chỉ sống trong nước một thời gian nhất định nhưng nguồn nước thải lại được đổ vào thường xuyên nên lúc nào chúng cũng có mặt. Đây chính là nguồn ô nhiễm vi sinh nguy hiểm đối với sức khoẻ con người.

Ở những thủy vực có nguồn nước thải công nghiệp đổ vào thì thành phần vi sinh vật cũng bị ảnh hưởng theo các hướng khác nhau tùy thuộc vào tính chất của nước thải. Những nguồn nước thải có chứa nhiều axit thường làm tiêu diệt các nhóm vi sinh vật ưa trung tính có trong thủy vực.

Tuy cũng là môi trường nước ngọt nhưng sự phân bố của vi sinh vật ở hồ và sông rất khác nhau. Ở các hồ nghèo dinh dưỡng, tỷ lệ vi khuẩn có khả năng hình thành bào tử thường cao hơn so với nhóm không có bào tử. Ở các tầng hồ khác nhau sự phân bố của vi sinh vật cũng khác nhau. Ở tầng mặt nhiều ánh sáng hơn thường có những nhóm vi sinh vật tự dưỡng quang năng. Dưới đáy hồ giàu chất hữu cơ thường có các nhóm vi khuẩn dị dưỡng phân giải chất hữu cơ. Ở những tầng đáy có sự phân huỷ chất

hữu cơ mạnh tiêu thụ nhiều ôxy tạo ra những vùng không có ôxy hoà tan thì chỉ có một nhóm kỵ khí bắt buộc không có khả năng tồn tại khi có oxy.

Ở môi trường nước mặn bao gồm hồ nước mặn và biển, sự phân bố của vi sinh vật khác hẳn so với môi trường nước ngọt do nồng độ muối ở những nơi này cao. Tùy thuộc vào thành phần và nồng độ muối, thành phần và số lượng vi sinh vật cũng khác nhau rất nhiều. Tuy nhiên tất cả đều thuộc nhóm ưa mặn ít có mặt ở môi trường nước ngọt. Có những nhóm phát triển được ở những môi trường có nồng độ muối cao gọi là nhóm ưa mặn cực đoan. Nhóm này có mặt ở cả các ruộng muối và các thực phẩm ướp muối. Đại diện của nhóm này là Halobacterium có thể sống được ở dung dịch muối bão hoà. Có những nhóm ưa mặn vừa phải sống ở nồng độ muối từ 5 đến 20%, nhóm ưa mặn yếu sống được ở nồng độ dưới 5%. Ngoài ra có những nhóm chịu mặn sống được ở môi trường có nồng độ muối thấp, đồng thời cũng có thể sống ở môi trường nước ngọt.

Các vi sinh vật sống trong môi trường nước mặn nói chung có khả năng sử dụng chất dinh dưỡng có nồng độ rất thấp. Chúng phát triển chậm hơn nhiều so với vi sinh vật đất. Chúng thường bám vào các hạt phù sa để sống. Vi sinh vật ở biển thường thuộc nhóm ưa lạnh, có thể sống được ở nhiệt độ từ 0 đến 40°C. Chúng thường có khả năng chịu được áp lực lớn nhất là ở những vùng biển sâu.

Nói chung các nhóm vi sinh vật sống ở các nguồn nước khác nhau rất đa dạng về hình thái cũng như hoạt tính sinh học. Chúng tham gia vào việc chuyển hoá vật chất cũng như các vi sinh vật sống trong môi trường đất. Ở trong môi trường nước cũng có mặt đầy đủ các nhóm tham gia vào các chu trình chuyển hoá các hợp chất cacbon, nitơ và các chất khoáng khác. Mối quan hệ giữa các nhóm với nhau cũng rất phức tạp, cũng có các quan hệ ký sinh, cộng sinh, hỗ sinh, kháng sinh như trong môi trường đất. Có quan điểm cho rằng vi sinh vật sống trong môi trường nước và đất đều có chung một nguồn gốc ban đầu. Do quá trình sống trong những môi trường khác nhau mà chúng có những biến đổi thích nghi. Chỉ cần một tác nhân đột biến cũng có thể biến từ dạng này sang dạng khác do cơ thể

và bộ máy di truyền của vi sinh vật rất đơn giản so với những sinh vật bậc cao.

Ngày nay các nguồn nước, ngay cả nước ngầm và nước biển ở những mức độ khác nhau đã bị ô nhiễm do các nguồn chất thải khác nhau. Do đó khu hệ vi sinh vật bị ảnh hưởng rất nhiều và do đó khả năng tự làm sạch các nguồn nước do hoạt động phân giải của vi sinh vật cũng bị ảnh hưởng

MÔI TRƯỜNG KHÔNG KHÍ VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG KHÔNG KHÍ

Môi trường không khí

Môi trường khí không phải là đồng nhất, tùy từng vùng khác nhau, môi trường khí rất khác nhau về thành phần các loại khí. Thí dụ như thành phần oxy, nitơ, CO₂ và các hợp chất bay hơi khác như H₂S, SO₂ v.v... Môi trường khí còn khác nhau về nhiệt độ, độ ẩm và ánh sáng ... Ở những vùng không khí trong lành như vùng núi, tỷ lệ khí O₂ thường cao. Ở những vùng không khí bị ô nhiễm, tỷ lệ các khí độc như H₂S, SO₂, CO₂ ... thường cao, nhất là ở các thành phố và các khu công nghiệp.

Sự phân bố của vi sinh vật trong không khí

Sự phân bố của vi sinh vật trong không khí cũng khác nhau tùy từng vùng. Không khí không phải là môi trường sống của vi sinh vật. Tuy nhiên trong không khí có rất nhiều vi sinh vật tồn tại. Nguồn gốc của những vi sinh vật này là từ đất, từ nước, từ con người, động vật, thực vật, theo gió, theo bụi phát tán đi khắp nơi trong không khí. Một hạt bụi có thể mang theo rất nhiều vi sinh vật, đặc biệt là những vi sinh vật có bào tử có khả năng tồn tại lâu trong không khí. Nếu đó là những vi sinh vật gây bệnh thì đó chính là nguồn gây bệnh có trong không khí. Ví dụ như các vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp có thể tồn tại lâu trong không khí. Khi người khỏe hít phải không khí có nhiễm khuẩn đó sẽ có khả năng nhiễm

bệnh. Những vi khuẩn gây bệnh thực vật như nấm rỉ sắt có thể theo gió bay đi và lây bệnh cho các cánh đồng ở rất xa nguồn bệnh.

Sự phân bố của vi sinh vật trong môi trường không khí phụ thuộc vào 3 yếu tố sau:

1. Phụ thuộc khí hậu trong năm

Thường vào mùa đông, lượng vi sinh vật hầu như ít nhất so với các mùa khác trong năm. Ngược lại lượng vi sinh vật nhiều nhất vào mùa hè. Có lẽ do độ ẩm không khí, nhiệt độ cao, gió mưa, do các hoạt động khác của thiên nhiên. Theo kết quả nghiên cứu của Omelansku lượng vi sinh vật trong các mùa thay đổi như sau (số lượng trung bình trong 10 năm).

Bảng 3.2. Lượng vi sinh vật trong 1m³ không khí

	Vi khuẩn	Nấm mốc
Mùa đông	4305	1345
Mùa xuân	8080	2275
Mùa hè	9845	2500
Mùa thu	5665	2185

2. Phụ thuộc vùng địa lý

- Lượng vi sinh vật gần khu quốc lộ có nhiều xe qua lại bao giờ cũng nhiều vi sinh vật trong không khí hơn vùng nơi khác.

- Không khí vùng núi và vùng biển bao giờ cũng ít vi sinh vật hơn vùng khác. Đặc biệt trong không khí ngoài biển lượng vi sinh vật rất ít.

- Ngoài ra nó còn phụ thuộc chiều cao lớp không khí. Không khí càng cao so với mặt đất, lượng vi sinh vật càng ít, kết quả nghiên cứu trên bầu trời Matxcơva cho thấy:

Bảng 3.3. Lượng vi sinh vật trong một lít không khí

Độ cao (m)	Lượng tế bào
500	2,3
1000	1,5
2000	0,5
5000 - 7000	Lượng vi sinh vật ít hơn 3 - 4 lần

3. Phụ thuộc hoạt động sống của con người

Con người và động vật là một trong những nguyên nhân gây nặn ô nhiễm không khí. Thí dụ như trong giao thông, vận tải, trong chăn nuôi, trong sản xuất công nông nghiệp, do bệnh tật hoặc do các hoạt động khác của con người và động vật mà lượng vi sinh vật tăng hay giảm.

Kết quả thí nghiệm trong một nhà máy bánh mì thấy rằng lượng vi sinh vật/1m³ không khí.

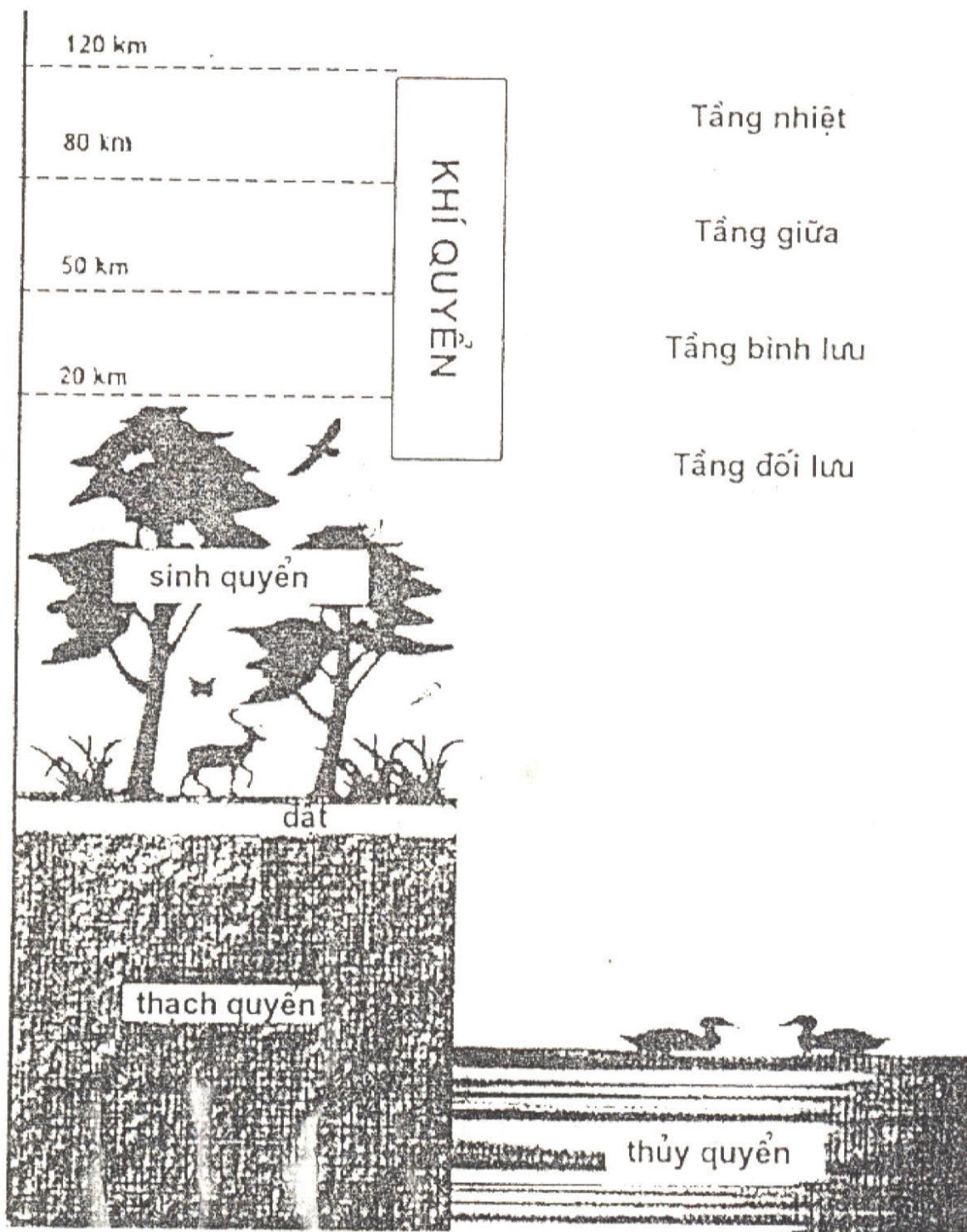
Bảng 3.4.

Phân xưởng	Nấm mốc (th/m ³ kk)	Vi khuẩn (th/m ³ kk)
Bột	4250	2450
Nhào bột	700	360
Lên men	650	810
Nuôi nấm men	410	720
Tạo hình	830	1160
Nướng bánh	750	950
Bảo quản	2370	1410

Kết quả chung cho thấy khu vực SX khác nhau cho thấy lượng vi sinh vật trong không khí khác nhau.

Bảng 3.5. Lượng vi sinh vật/1m³ không khí ở các vùng khác nhau

Nơi chăn nuôi	1.000.000 - 2.000.000
Khu cư xá	20.000
Đường phố	5.000
Công viên trong thành phố	200
Ngoài biển	1 - 2



Hình 3.3. earth (Trái đất): the principal layers and compartments of the earth

(các lớp chính và các quyển của Trái đất)